

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Untersuchungen zur funktionellen Morphologie und dynamischen Biochemie der Bakterienzelle

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität
München

von
Dieter Otto Schmid
Tierarzt
aus Stuttgart

München 1957

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Untersuchungen zur funktionellen Morphologie und dynamischen Biochemie der Bakterienzelle

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität
München



von

Dieter Otto Schmid

Tierarzt
aus Stuttgart

München 1957

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. Liebmann

Referent: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

Druck: Wilhelm Herget, Stuttgart

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit
und Verehrung zugeweiht

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung	
2. Färberische Darstellung der Bakterien zur lichtoptischen Beurteilung	9
a. Gram-Färbung zur Übersichtsdarstellung und zur speziellen Plasmadarstellung	11
aa. Mechanismus	11
bb. Technische Durchführung.	13
b. Toluidinblau-Färbung.	13
c. Trichrom-Färbung mit Orange-G, Methylgrün und Toluidinblau nach Korson	13
d. Selektivdarstellung der Bakteriengrenzflächen (Zellwand, Cytoplasmamembran, Querwände, Septen, Geißeln)	14
e. Darstellung des Bakterienzellkerns	
Übersicht über den derzeitigen Stand der Bakterienzellkernforschung, Untersuchungsmethoden	
aa. Feulgen-Nuklealreaktion	20
bb. Verlängerte Giemsa-Färbung mit nachfolgender vorsichtiger Alkoholdifferenzierung	20
cc. HCl-Giemsa-Methode nach Robinow.	20
dd. Fermentativer Abbau der RNS und DNS durch Nukleasen	21
ee. Perchlorsäure-Fuchsin-Methode nach Cassel.	21
ff. Pyronin zur RNS-Darstellung und Methylgrün zur DNS-Darstellung nach Unna	22
gg. Azur-Eosin-Darstellung der Nukleotide nach Tronnier	22
hh. Negativ-Darstellung der Nukleotide bei Janusgrün-Vitalfärbung	22
ii. Versuch der Darstellung cytoplasmareicher und cytoplasmareicher Bakterienzellkerne mit dem Vibrator nach Kurz-Merkenschlager-Schloßmann	23
f. Darstellung der Bakterienmitochondrien	24
Übersicht über den derzeitigen Stand der Bakterienmitochondrien-Forschung. Untersuchungsmethoden	
aa. Vitaldarstellung mit Triphenyltetrazoliumchlorid und Neotetrazoliumchlorid.	26
bb. Nadi-Reaktion (Indophenolblau-Lebend-Reaktion).	28
cc. Vitalfärbung mit Janusgrün (Diazingrün)	28
dd. Reduktion von Telluriten und Seleniten.	29
ee. Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis der Speicherung von Berberin in Chondriosomenäquivalenten von Bakterien.	30
ff. Darstellung der Mitochondrien bzw. Mitochondrienäquivalenten mit Toluidinblau nach Vorbehandlung mit Formol-Sublimat	30

3. Alterungsvorgänge und Absterbeerscheinungen der Bakterienzelle	31
4. Biochemische Studien zur Aufklärung der Wirkungsweise der chemotherapeutisch-und antibiotisch wirksamen Substanzgruppen (Überblick über die Literatur)	37
5. Morphologische und zellphysiologische Studien zur Aufklärung der Wirkungsweise der chemotherapeutisch und antibiotisch wirksamen Substanzgruppen (Übersicht über die Literatur)	62
6. Versuchsprotokolle	67
Versuchsansatz, geprüfte Wirkstoffkonzentrationen, Makroskopische Hemmwertbeurteilung, Mikroskopische Beurteilung, Wirkungsweise	
I. Metalle	
1. Silbernitrat	68
1b. Albargin	69
2. Bleiazetat	69
3. Quecksilberchlorid	70
4. Kobalt-II-nitrat	70
5. Nickel-II-nitrat	71
6. Zinksulfat	71
7. Kadmiumnitrat	72
8. Lithiumchlorid	72
9. Caesiumchlorid	73
II. Arsentrioxyd	73
III. Sulfonamide	
1. Ladogal	74
2. Irgafen	75
3. Cibazol	75
4. Gantrisin	76
5. Elkosin	76
6. Diazil	77
7. Dosulfin	77
IV. Aldehyde	
1. Bilamid	78
2. C 1669	78
3. Ciloprin	80
V. Quartäre Ammoniumbasen	
1. Desogen	80
2. Bradosol	81
3. Straminol	81
VI. Akridinfarbstoffe	
1. Trypaflavin	82
2. Pyridin	83
3. Pyridacil	83
VII. Surfen	84
VIII. Tuberkulostatika	
1. PAS	84
2. Sulfone	85
3. INH	85
4. Solvoteben	86
5. Pyrazinamid	86

IX. Cytostatika

1. Urethan	87
2. Colchicin	88
3. Janusgrün-B	90
4. Demecolcin	89
5. Cealysin	92
6. Dichloren	93
7. 2,5-Bis-Äthylenimino-hydrochinon	94
8. Stickstoff-Lost, N-Lost	95
9. Mitomen N-oxyd-Lost	96
10. Actinomycin-C (Sanamycin).	97

X. Antibiotika

1. Penicillin	97
2. Streptomycin und Dihydrostreptomycin	98
3. Chloramphenicol.	98
4. Tetracycline	
a. Chlortetracyclin	99
b. Oxytetracylin	101
c. Tetracyclin	101
5. Bacitracin	102
6. Neomycin	102
7. Furacin	103
8. Erythromycin	103
9. Magnamycin	104
10. Tyrothricin	104
11. ACN	105

XI. Antabus 106

7. Die Bedeutung der SH-Gruppen im bakteriellen Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung ihres Antagonismus zu einigen Chemotherapeutika und Antibiotika	108
8. Resistenzphänomene bei Bakterien und ihre morphologische und biochemische Erfassung	109
9. Der Formenkreis der „large bodies“ und L-Formen bei Bakterien und ihre Entstehung nach Einwirkung von antibiotisch wirkenden Substanzen auf die Bakterienzelle	111
10. Einfluß von Sauerstoff bzw. Mangel an Sauerstoff auf die Morphologie und den Stoffwechsel bei Bakterien	113
11. Beeinflussung der Pigmentbildung bei Bakterien durch Chemotherapeutika und Antibiotika.	113
12. Wirkung von Hormonen auf die Morphologie und den Stoffwechsel von Mikroorganismen Östrogene — Cortison — ACTH — STH	115
13. Wirkung von Vitamin-T-Goetsch auf Mikrokokken	118
14. Wirkung von Chemotherapeutika und Antibiotika auf die Beweglichkeit von Mikroorganismen	119
15. Zusammenfassung	124
16. Literaturverzeichnis	129
17. Verzeichnis bisher veröffentlichter Arbeiten.	151
18. Schlußwort	127



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Schon seit Jahrhunderten beschäftigt sich der forschende Geist des naturbeobachtenden Menschen mit der Frage nach der Entstehung und dem Wesen des Lebens. Zwar werden wir dem Ziel der Beantwortung dieser Frage wohl näher kommen können, ob wir aber das Geheimnis vom Wesen des Lebens jemals ganz enträtseln können, ist ungewiß.

Bei dem heutigen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis bleibt es bei dem resignierenden „Ignoramus - Ignorabimus“.

Jede lebende Zelle, also auch die Bakterienzelle und darüber hinaus jeder Primitivbaustein einer lebendigen Organisation mit funktioneller Eigengesetzlichkeit zeigt in seinem chemisch stofflichen Ordnungsgefüge keinen stationären Zustand, sondern vielmehr ein dynamisches Geschehen, an dem alle erkennbaren Strukturen und Formelemente der Zelle teilhaben und das physikalisch-chemisch am besten als „Fließgleichgewicht“ von in ständigem stofflichem Umsatz befindlichen Strukturen zu definieren ist. Diese grundlegenden Erkenntnisse vom fortwährenden Auf- und Abbau der lebenden Materie wurden gewonnen, nachdem es experimentell gelungen ist, die einzelnen Zellbausteine mit radioaktiven Isotopen zu markieren und so ihr Schicksal während der Assimilations- und Dissimilationsprozesse zu verfolgen. Die beiden wichtigsten Bestandteile jedes lebendigen Gefüges, Proteine und Nukleinsäuren sind schon in pflanzen- und tierpathogenen Strukturen, den Viren, die wesentlich kleiner sind als Bakterien, also kleiner als die kleinsten Lebewesen von gesicherter Zellstruktur, nachweisbar. Nach unseren heutigen Vorstellungen sind die aus Eiweißmolekülen und Nukleinsäurekomplexen hervorgegangenen Nukleoproteidmoleküle die Träger des Lebens.

Die lebendige Organisation wird in ihrer Zusammensetzung hinsichtlich des chemischen Baugefüges schrittweise komplizierter und schon bei den größeren Virusarten und Bakteriophagen, so dem Virus der atypischen Geflügelpest und den Coliphagen, sind im elektronenoptischen Bild strukturelle Differenzierungen möglich. Das Tabakmosaikvirus läßt sich in stäbchenartige Untereinheiten desaggregieren und auch wieder reaggregieren, ohne allerdings die Pathogenität wiederzugewinnen. Auch das Virus der klassischen Geflügelpest kann in verschiedene Strukturbestandteile, in ein niedermolekulares Protein und eine hochmolekulare Hüllsubstanz zerlegt werden. Und schließlich besitzen die Kuhpockenviren Zentralkörper, die wie die Zellkerne reich an Nukleinsäuren sind. Aber bekanntlich zeigen die Virus-Nukleoproteidmoleküle erst dann die Kriterien des Lebens, die Fähigkeit zur identischen Autoreduktion, wenn sie sich die Stoffwechselenergie einer Wirtszelle zunutze machen und ihr Synthesevermögen zu ihren Gunsten umsteuern können. Ein vermehrungs- und mutationsfähiges Gebilde in einer energie- und baustoffliefernden Umgebung ist nach Freksa noch kein Lebewesen. Ein Lebewesen ist dann erst entstanden, wenn energieumsetzendes und genetisches Material zu einem Gebilde vereinigt sind.

Zu den kleinsten Lebewesen mit gesicherter Zellstruktur, die alle diese Kriterien des Lebens erfüllen, gehören die Bakterien. Mit moderner cytochemischer Methodik läßt es sich wahrscheinlich machen, daß das Strukturgefüge im Bakterium nur unwesentlich von dem der übrigen Zellen abweicht und auch die mikrochemische Analytik der Lebensvorgänge im Bakterium läßt ahnen, daß die lebenserhaltenden und lebensmehrenden

biochemischen Elementarreaktionen in der Mikroorganismenzelle nach den gleichen Prinzipien ablaufen wie in der Makroorganismenzelle. Die Lebensfunktionen der Bakterien werden in gleicher Weise wie die der höheren Organismen von komplizierten Fermentsystemen gesteuert. Bisher hat man in Bakterien verschiedene Enzymgruppen nachweisen können, die ganz spezifisch in die Lebensvorgänge eingreifen und die, wenn auch mit abweichender chemischer Konstitution, zu den Grundelementen des tierischen Organismus zu zählen sind.

Das Studium am Bakterium als Modellversuchsobjekt mit rascher Generationsfolge versetzt uns in die Lage, einen Blick in die Elementarvorgänge des Lebendigen zu tun. Jeder Eingriff in die Kontinuität dieses dynamischen Geschehens zwingt die Bakterienzelle zu bestimmten kompensatorischen Reaktionen und führt nach Erschöpfung dieser Ausgleichsmechanismen zu Absterbeerscheinungen, die das Bakterienplasma, die mitochondrienähnlichen Strukturen und schließlich auch die Kernäquivalente erfassen und mit dem Zelltod beschlossen sind. Wir haben damit eine Kette funktioneller und pathologischer Abläufe ausgelöst, wie wir sie bei den makroorganismischen Zellen schon seit langer Zeit kennen.

Nach derzeitigem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis (591) ist die Zelle der letzte nicht weiter aufteilbare Lebensträger und bildet eine morphologische und funktionelle Einheit. Zwischen Kern und Cytoplasma besteht ein funktionelles Wechselspiel. Im Kern erfolgt die Proteinsynthese, die Bildung von Nukleotiden, besonders auch der RNS*) und die Bildung von Lipoiden (u. a. Phosphatiden). In den Mitochondrien läuft die oxydative Phosphorylierung und der Citronensäurezyklus ab. Das Cytoplasma schließlich stellt nach Lang (919) ein ungeordnetes Multienzymsystem dar, das u. a. Träger der Glykolyse, des Aminosäurestoffwechsels, der Kynurenin-Bildung, der Spaltung von Glutamin, der enzymatischen Reduktion von Glutathion und der Biosynthese von Purinen, Kreatin und Arginin ist. Die cytoplasmatische RNS wird bei der intrazellulären Proteinsynthese verbraucht. Die verbrauchte RNS wird vom Kern nachgeliefert. Nach Zufuhr radioaktiver Phosphate oder Purine werden markierte RNS zunächst nur im Zellkern und später erst im Cytoplasma gefunden, und zwar auf Kosten des RNS-Gehaltes im Kern sowie des als RNS-Speicher bekannten Nukleolus (Schleusenmechanismus nach Berg). Die RNS ist als ringartige Ablagerung um die Kernmembran nachweisbar. Der Stoffaustausch zwischen Kern und Cytoplasma vollzieht sich vornehmlich im Stadium der Teilungsruhe. Die Vergrößerung des Kernvolumens, eine funktionelle Kernschwellung im Sinne Benninghoffs (920), wird als eine an vermehrte Anforderung angepaßte stärkere synthetische Aktivität angesehen. Das funktionelle Zellkernsystem ist für die Zeit einer gesteigerten Leistung gleichsam auf ein höheres Niveau gehoben. Auch bei den anderen funktionellen Systemen der Zelle beobachten wir diese Anpassung an vermehrte oder veränderte Leistung, die auch hier morphologisch ihren Ausdruck findet.

Das Problem der Erneuerung von Strukturen und der intrazellulären Enzymbildung ist sowohl im makrozellulären wie im mikrozellulären Bereich das Problem des normalen und pathologischen Wachstums, das Problem des physiologischen Altern und der krankhaften Degeneration.

Man hat im letzten Jahrzehnt erkannt, daß eine chemotherapeutische Beeinflussung nur über den Stoffwechsel der Mikroorganismen möglich ist. Mikroorganismen ohne eigenen Stoffwechsel, wie z. B. die kleinen Virusarten, sind einer Chemotherapie nicht zugänglich. Wenn Antibiotika sich bei Viruserkrankungen als brauchbar erweisen, dann nur, weil sie die sekundären die Viruserkrankung komplizierenden Bakterieninva-

*) RNS = Ribonukleinsäure

sionen bekämpfen. Die Forderung einer gezielten antibakteriellen Therapie, wie sie heute besonders unter dem Einfluß der Arbeiten von Ullrich und seiner Schule (911) in zunehmendem Maße auch in der Veterinärmedizin erhoben wird, sowie die in diesem Zusammenhang immer wichtiger erscheinende Frage der Auswertung von Resistenzprüfungen in vitro zur Beurteilung der aktuellen biochemischen Reaktionslage und der sich daraus ergebenden chemotherapeutischen Beeinflußbarkeit des Mikroorganismus gaben Veranlassung, in Fortführung früherer experimenteller Arbeiten weitere morphologische und cytochemische Untersuchungen anzustellen (298, 299, 301, 302, 303, 304). Diese Fragen stellen ohne Kenntnis der Wirkungsweise der Chemotherapeutika und Antibiotika offene Probleme dar.

Grundlegende morphologische und biochemische Untersuchungen zur Klärung der physiologischen und pathologischen mikrobiellen Stoffwechselmechanismen sind daher für die Entwicklung und den Einsatz einer rationellen gezielten Chemotherapie ausschlaggebend und richtungweisend. Umgekehrt kann die Klärung des Wirkungsmechanismus einer Substanz, die auf rein empirischer Basis geprüft wurde, wertvolle Hinweise über den Stoffwechsel des Mikroorganismus geben, den es beeinflusst, und so zu einem Verständnis der Biochemie des Organismus beitragen. Entscheidend bei der Beurteilung ist, daß die spezielle Wirkung eines bestimmten Moleküls, sei es nun Metabolit oder Antimetabolit, von dem biologischen Gleichgewicht der Zelle abhängt, in die dieses Molekül eingebracht wird. Nach Max Bürger sehen wir in der veränderten Struktur einen Ausdruck der veränderten Funktion des lebenden Substrates.

Zur morphologischen Erfassung funktioneller Abläufe in der Zelle muß das morphologische Substrat der stoffwechselkinetischen Vorgänge bekannt sein. Nach den Worten Letterers (516) kann man versuchen, die „Funktion hinter der Form sichtbar zu machen, so daß die Form lebendig und aus der Struktur dann die Dynamik der Gestalt“ wird. Dies gilt sinngemäß angewandt auch im Reich der Mikroorganismen. Die Schwierigkeiten bei der Erforschung der inneren Dynamik der Lebenserscheinungen liegen zunächst im Methodischen. Es ist bislang noch nicht gelungen, die Methoden derart zu verfeinern, daß man sagen könnte, man habe sich den Bedingungen in der Zelle weitgehend genähert.

Färberische Darstellung der Bakterien zur lichtoptischen Beurteilung

I. Gram-Färbung zur Übersichtsdarstellung und zur speziellen Plasma-darstellung

a) Mechanismus (u. a. 42)

Bakterien, die Magnesium-Ribonukleat im Lipoproteidkomplex enthalten (Gram-positive Mikroorganismen), bilden bei der Färbung mit Pararosanilinen (z. B. Gentianaviolett) bei starker Affinität zu Jod und in Gegenwart von Kaliumjodid eine in Alkohol schwerlösliche Jodverbindung (Parajodrosanilin). Gram-negative Mikroorganismen enthalten keine Lipoproteide. Die alkohollöslichen Pararosaniline werden durch den Alkohol wieder ausgewaschen und die Bakterien erscheinen durch die Kontrastfärbung mit Safranin bzw. wäßrigem Fuchsin rot angefärbt. Nach Salton (611) hingegen besitzen die grampositiven Bakterien in der Zellwand mehr Hexosamin, die gramnegativen bedeutend mehr Lipoide (19 bis 21%). Nach Henry und Stacey (131, 235, 236) kann der für die Gram-Reaktion verantwortliche Magnesium-Ribonukleatkomplex durch zwei-prozentige Lösung von Gallensalzen extrahiert werden. Dieser Vorgang ist reversibel. Die extrahierte grampositive Substanz kann man unter

reduzierenden Bedingungen auf die verbliebenen Bakterienleiber wieder aufziehen, wodurch sie ihre Färbbarkeit nach Gram wiedergewinnen. Auf Magnesium-freien Nährböden gezüchtete obligat grampositive Bakterien bleiben gramnegativ. Diese Kulturen gewinnen bei Zugabe von Magnesium, noch rascher, wenn Magnesium und Ribonukleinsäure angeboten wird, ihre positive Färbbarkeit nach Gram wieder. Auch durch Alterung und nach Behandlung mit Alkali können grampositive Bakterien ihre Färbbarkeit verlieren. Mukherji (93, 92) verwandelte nach 1—2stündiger Bestrahlung mit UV-Licht gramnegative Bakterien in grampositive Formen. Baker und Bloom (26) haben obligat gramnegative *E. coli* durch Auflagerung von „hochvisköser“ (DNS*) zu grampositiven Coli-Formen gemacht und konnten nachher wieder den Prozeß durch Auswaschen mit Wasser rückgängig machen. Schon Reichert (491) fand, daß mit Fettlösungsmitteln bei 37 Grad C behandelte *Bac. anthracis* und *Corynebacterium diphtheriae* gramfrei wurden und schloß daraus, daß der Verlust der Gramfestigkeit durch Extraktion der Lipide bedingt ist. Larose und Fischer (232, 492, 493) stellten fest, daß grampositive Keime durch Säurebehandlung (z. B. Einwirkung von 1%iger Pikrinsäure 75 Minuten bei 55 Grad C ist wirkungsgleich mit der Einwirkung von Ribonuklease in einer Konzentration von 200 Gamma/ml 60 Minuten bei 37 Grad C — Testkeim: *Bac. cereus*.) oder durch Oxydationsmittel in gramnegative Keime verwandelt werden können. Alkali und Reduktionsmittel machen diese Reaktion rückläufig. Aus grampositiven Keimen isolierten sie mehr ungesättigte Fettsäuren mit einer großen Affinität zur Oxydationsmitteln als aus gramnegativen Keimen. Bartolomew und Mittwer (582) stellten fest, daß bei der Zellaulyse zuerst das Magnesium-Ribonukleat und damit die grampositive Eigenschaft verlorengeht. Bei Zugabe von Mg-Ribonukleat kann der alte Zustand wieder hergestellt werden. Das Ektoplasma und die anfärbare Zone bleiben daher zunächst erhalten, dann verschwindet diese Außenstruktur, die Zelle wird kleiner und lysiert schließlich total. Gramnegative Bakterien konnten Bartolomew und Mittwer nicht in grampositive verwandeln. Benians (635) machte die wichtige Beobachtung, die eine unwiderlegbare Grundlage jeder Theorie der Gram'schen Färbung bildet, daß die Grampositivität nach mechanischer Zertrümmerung der Zellen verlorengeht. Daraus folgt nach Tomcsik, daß die Grampositivität nicht allein auf chemische Eigenschaften gewisser Zellsubstanzen zurückgeführt werden kann. Doch ist es wohl möglich, daß ein chemisch definierbarer Komplex für die Grampositivität verantwortlich ist, wenn er in geordneter Form in eine Oberflächenschicht der Bakterienzelle eingebaut ist. Benians dachte bereits an die Zellwand. Daß RNS einen Bestandteil dieses Komplexes bildet, wurde von Deussen (238) nachgewiesen und später von Bartholomew und Umbreit (237) im Hinblick auf die Gramfärbung diskutiert. Bei Restitution der Grampositivität sind nach Stacey Arginin und die SH-Gruppen des basischen Proteins von Bedeutung. Webb (638) fand den Magnesiumgehalt der grampositiven Bakterien wesentlich höher als den der gramnegativen. Noch völlig unklar ist, wie sich die Annahme von Mitchell und Moyle (637), nach der die grampositiven Bakterien einen Lipoid-Polyglycerophosphat-Protein-Komplex enthalten, der den gramnegativen Bakterien fehlt, mit den Feststellungen anderer Untersucher und der daraus entwickelten Theorie zwanglos in Einklang bringen läßt. Die cytologische Lokalisation des Gram-Komplexes kann nur vermutet werden. Lamanna und Mallette (639) nehmen an, daß er sich in der Zellwand befindet. Tomcsik und Mitarbeiter lokalisieren ihn an der Grenzfläche der Zellwand und der Cytoplasmamembran.

*) DNS = Desoxyribonukleinsäure

Allgemein gilt, daß alle basischen Farbstoffe, die mit Jod ein Präzipitat erzeugen, immer eine Differenzierung nach Gram ergeben. Die besten Resultate sind unter Verwendung von Triphenylmethanfarbstoffen zu erzielen. (43)

b) Technische Durchführung

Die Gram-Färbung ist nach den Grundsätzen, die Rolle (488) und seine Schüler Martens (489) und Rother (490) erarbeitet haben, durchgeführt, eine verlässliche Methode zur Darstellung und Differenzierung der Bakterien, die darüber hinaus wertvolle Anhaltspunkte bei der morphologischen Beurteilung einzelner Stoffwechselsituationen gibt. Ausgedehnte eigene Untersuchungen während der Jahre 1944—1946 mit der Modifikation nach Hucker unter Verwendung von Kristallviolett haben in Übereinstimmung mit den Feststellungen von Dietze (487) ergeben, daß die Methode nach Hucker (zit. n. 489, 490) für die Praxis nicht uneingeschränkt geeignet ist. Die leichte Entfärbbarkeit des Kristallviolett bei inkonstanter Entfärbungszeit macht diese Modifikation für die vorliegenden Untersuchungen unbrauchbar. Am besten bewährt hat sich die Färbung mit Karbolgentianaviolett und nachfolgende Kontrastierung mit Safranin. Als Entfärbungsmittel wurde ausschließlich absoluter Alkohol verwendet.

2. Toluidinblau-Färbung

Toluidinblau, ein basischer Teerfarbstoff, ergibt bei Geweben bekanntermaßen gute, kontrastreiche Kernfärbung. Zur Übersichtsfärbung und zur speziellen Darstellung der RNS-Strukturen im Bakterium hat sich uns die Färbung mit Toluidinblau in 0,1% iger wäßriger Lösung bei einer optimalen Färbedauer von 30 Sekunden bis zu 1 Minute am **unfixierten** luftgetrockneten Ausstrich bewährt.

Bei Mikrokokken kann man ein dunkelblaues Zentrum und einen schmalen hellvioletten Randsaum unterscheiden.

B. coli und *Proteus vulgaris* zeigen bipolar rundliche dunkelblaue Farbverdichtungszone bei sonst hellerem Bakterienplasma, das einerseits mit dunkelblauen scholligen, körnigen, z. T. spiraligen dunkelblauen Strukturen durchsetzt sein kann.

Bac. cereus stellt sich mit einer tiefblauen, evtl. unterbrochenen Randzone, die zu einer hellpurpurnen Mittelzone deutlich kontrastiert, dar. Die Zellpole können verstärkt angefärbt sein.

Kombinationsfärbungen von Toluidinblau — Azur II, Toluidinblau + Safranin, Toluidinblau + Azur II + Erythrosin im Simultan- oder Sukzessivverfahren ergeben bei Mikrokokken keine besseren Resultate. Auch bei Stäbchen erleichtert der Rot-Blau-Kontrast nur unwesentlich die Übersicht. Eine Kombination von Toluidinblau und im Nachgang dazu Farbstofflösung 6120/12 der Ciba ergibt bei Mikrokokken und *Bac. cereus* eine türkisgrüne Innenzone, bei *B. coli* tiefblaue polständige Farbverdichtungen in hellpurpurnem Bakterienplasma.

3. Trichrom-Färbung mit Orange G, Methylgrün und Toluidinblau nach Korson (597)

Ebenso wie die Toluidinblau-Färbung wurde diese Methode bisher nur in der Histologie und Hämatologie angewandt. Nach Korson gestattet das Verfahren eine Differenzierung von RNS und DNS in der Zelle. Der Beweis wurde durch wechselseitigen und gleichzeitigen Abbau der RNS und DNS durch RNS-ase und DNS-ase bzw. Hydrolyse mit heißer und kalter Perchlorsäure erbracht. Das Chromatin (DNS) färbt sich grün, Nukleolus (RNS) blau und das Cytoplasma mit eingelagerter RNS orange mit blauen Granula. Die Präparate werden zunächst in absolutem Methylalkohol fixiert (3 Minuten), dann in 4% iger wäßriger Orange-G-Lösung gefärbt

(2 Minuten), nach Abspülen in eine 0,15%ige wäßrige Methylgrünlösung überführt (15 Minuten) und schließlich in einem Gemisch aus gleichen Teilen einer 0,1%igen wäßrigen Toluidinblau-Lösung und einer 0,15%igen wäßrigen Methylgrün-Lösung (5 Minuten) nachgefärbt.

Bei Bakterien sind auch an unfixierten Präparaten farbstärke Bilder zu erzielen. Die Färbungsergebnisse stimmen prinzipiell mit den bei Toluidinblau und seinen Kombinationen besprochenen überein. Bei Mikrokokken kontrastiert ein roter Saum mit einem dunkelblauen Zentrum. Eine Differenzierung zwischen grünen DNS- und blauen RNS-Bezirken gelingt nur nach Perchlorsäure-Einwirkung oder Anwendung von RNS-ase und DNS-ase, also praktisch Ausblendung einer der beiden Komponenten. Eine synoptische färberische Darstellung von RNS- und DNS-Bezirken in differenzierter Farbtönung gelingt bei Bakterien mit der Methode nach Korson nicht.

II. Selektivdarstellung der Bakteriengrenzflächen (Zellwand, Cytoplasmamembran, Querwände, Septen, Geißeln)

Die Zellwand und die Cytoplasmamembran sind als Grenzflächen wesentliche Bestandteile der lebenden Bakterienzelle. Sie bestimmen mit ihren bei Wachstum und Teilung einem fortlaufenden Umbau unterliegenden Strukturen die Form des Bakteriums. Die spezifischen Antikörper und die meisten Fermente können als hochmolekulare Eiweißkörper nicht in das Innere der intakten Zelle eindringen und reagieren primär nur mit den Oberflächenstrukturen der Bakterien, der Kapsel, der Zellwand und dem Geißelapparat. Infolge der selektiven Permeabilität der Bakterienzellwand können hingegen toxische und bakterielle Proteine von der lebenden Zelle abgegeben werden. Die meisten chemotherapeutisch und antibiotisch wirksamen Stoffe sowie die Desinfektionsmittel durchdringen als niedermolekulare Substanzen die Zellwand und erreichen die Cytoplasmamembran. Kantorowicz (609) beobachtete ein verschiedenes Verhalten der grampositiven Bakterien einerseits und den gramnegativen andererseits gegenüber Trypsin. Die von Kantorowicz postulierten Antifermente, die eine abschirmende Wirkung gegenüber Trypsin ausüben sollten, wurden nicht gefunden. Demgegenüber fanden Salton und Horne (610) elektronenoptisch nach Erhitzen dieser Bakterien Risse in der Zellwand. Bei grampositiven Bakterien konnte eine Läsion der Zellwand nicht beobachtet werden. Andere proteolytische Fermente verhalten sich ähnlich wie Trypsin. In eigenen Versuchen an ungeschädigten Mikrokokken waren Trypsin, RNS-ase und DNS-ase sowie Hyaluronidase quoad vitam wirkungslos. Vorgeschädigte Mikrokokken sind hingegen fermentativ angreifbar. Bei vermehrungsfähigen Mikrokokken und vielen gramnegativen Erregern wird im Gegenteil das Wachstum durch Trypsin (494) und Hyaluronidase, möglicherweise durch Freisetzung und Bereitstellung von wuchswirksamen Aminosäuren, noch gefördert. Diese Beobachtung hat man sich bei der Therapie zunutze gemacht. Ein Einsatz der Antibiotika, die bekanntlich im wesentlichen nur gegenüber sich rasch vermehrenden Mikroorganismen wirksam sind, ist damit mit größtem Nutzeffekt möglich geworden. Daneben zerstört Trypsin viele Bakterientoxine und inaktiviert Penicillinase. Durch Beseitigung von Gewebstrümmern und Nekrosematerial und damit schließlich und endlich einem Nährbodenentzug für die pathogenen Bakterien erreicht man mit Hilfe von Trypsin eine fermentative Wundtoilette (494). Trypsin ist der Streptokinase und Streptodornase deutlich in der Wirkung überlegen (282). Auch Varidase, ein Gemisch von Streptokinase und Streptodornase im Verhältnis 4:1 ist fermentativ gegenüber dem strukturellen Gefüge des ungeschädigten Bakteriums indifferent. Die Streptodornase ist als DNS-ase streng spezi-

fisch und wirkt nur auf extrazelluläre Nukleoproteine oder auf die Kerne degenerierter Zellen. Lebende Zellen werden niemals angegriffen (15).

Somit kann nach Salton (611) die Schlußfolgerung gezogen werden, daß die proteolytischen Fermente intakte lebende Bakterien deshalb nicht angreifen, weil die Zellwand eine für diese Fermente impermeable Grenzfläche darstellt. Die Gültigkeit dieser allgemeinen Feststellung ist allerdings durch einige neuere Beobachtungen von Tomcsik und Mitarbeitern (612, 613, 614) eingeschränkt. Wenn nicht eine vollständige Anfärbung bzw. eine auffallende Trübungsabnahme der Bakteriensuspension, sondern eine mikroskopisch sichtbare Veränderung des Cytoplasmas zur Beurteilung der Trypsinwirkung gewählt wird, dann kann man eine gewisse Trypsin- und Pepsinempfindlichkeit ausnahmsweise auch bei lebenden grampositiven Bakterien feststellen. Bei *Bac. megatherium*, *Bac. anthracis* und *Bac. M* konnte Tomcsik im Gegensatz zu *Bac. cereus* und *M. tetragenus* eine fast vollständige Verdauung des Cytoplasmas erreichen. Die Zellwände dieser Mikroorganismen blieben nach Trypsinverdauung scheinbar intakt. Zur Erklärung dieser Ausnahmen stellt Tomcsik die Hypothese auf, daß an der Grenzfläche der Bakterien, die der Trypsinverdauung zugänglich sind, Proteine mosaikartig angeordnet sind. Wenn diese Proteine verdaut werden, könnten die proteolytischen Fermente einen Zugang zu den Cytoplasmaproteinen finden. Diese Hypothese konnte durch Tomcsik bisher nur im Fall des *Bac. M* experimentell begründet werden (643). Die typenspezifische M-Substanz bei Streptokokken der Gruppe A, ein nicht lebenswichtiger struktureller Bestandteil der äußeren Grenzfläche kann mit Trypsin fermentativ zerlegt werden (Lancefield 615).

Mit der direkten Zellwandfärbung ist eine einwandfreie Differenzierung von Zellwand und Cytoplasmamembran kaum möglich. Die osmotische und die enzymatische Trennung der zwei Grenzflächen oder aber eine enzymatische, chemische bzw. physikalische sog. mikrodissessorische Zerstörung einer dieser strukturellen Elemente zeigt klar den fundamentalen Unterschied dieser zwei Grenzflächen, besonders deutlich im Phako*). Elektronenoptisch können bei grampositiven Kokken Membranen und Septen dargestellt werden. Diese Zellmembranen werden durch mechanische Zerstörung gewonnen (514). Lichtoptisch sind sie unter Verwendung von Osmiumtetroxyd-Dämpfen, Tanninbeize und Kristallviolett sichtbar zu machen (515).

Die Bakterienzellwand wurde bereits von Babes (616) erkannt. Querwände wurden erstmals von Migula (617), dann von Preiß (618) am Anthrax beschrieben. Der positive färberische Nachweis gelang aber erst Eisenberg (619), der die Färbbarkeit der Zellwand nach Beizen mit Aurantia, Pikrinsäure, Tannin, Sublimat, Goldchlorid, Methylalkohol und Phenol nachgewiesen hat. Knaysi (620) kombiniert Tannin- und Alaunbeizen, Robinow empfiehlt die Tanninbeizung. Dyar (621) verwendet als Kation-Netzmittel Cetylpyridiniumchlorid. Hale (622) und Bisset und Hale (623) bevorzugen Phosphomolybdänsäure. Klieneberger-Nobel (243) differenziert färberisch zwischen Schleimbildnern und Kapselträgern. Robinow und Murray (624) bedienen sich zur selektiven Zellwanddarstellung bei Bakterien des Sublimat und Kristallviolett, Methylgrün, Viktoriablauf B oder 4 R als Kontrastfarbstoffen nach dem Beizen. Webb (606) empfiehlt eine kombinierte Nukleoid-Zellwalfärbung mit 1%iger Kristallviolett pH 7,5, 0,5%iger $HgCl_2$ -Lösung, Gegenfärbung mit 8%iger Nigrosin-Lösung pH 3,5 und anschließender Zellwalfärbung nach Chance (607). Tomcsik und Grace (614) verwenden Alcian-Blue der Imperial Chem. Ind. Ltd. Manchester. Alcian-Blau reagiert nach McKinney (625) mit den Poly-

*) Phako = Phasenkontrast

sacchariden der Oberflächenstrukturen. Bei Bakterien, die mit Ätherdämpfen fixiert werden, kommt nach Robinow-Murray (624) eine polare Retraktion des Protoplasten von der Zellwand zustande. Nach Bisset (524) präzipitiert das Tannin auch in intakten Bakterien die Cytoplasmamembran an die innere Seite der Zellwand, wodurch der Farbstoff in das Innere des Cytoplasma nicht diffundieren kann. Das Cytoplasma wird somit nicht gefärbt; demgegenüber wird mit dieser Methode die Zellwand an ihrer inneren Grenzfläche durch das Cytoplasmamembran-Präzipitat verstärkt dargestellt. Bisset und Hale (645) wiesen auch bei Mikrokokken färberisch Querwände nach und stellten diese auch durch Behandlung im Mickle-Vibrator dar. Querwandbildung ohne nachfolgende Abschnürung führt schon unter physiologischen Bedingungen besonders häufig bei grampositiven Sporenbildnern zu multizellulären Formen (643).

Der Nachweis von Polysacchariden in der Zellwand kann mit der Perjodat-Feulgen-Reaktion geführt werden (640, 641). In eigenen noch nicht veröffentlichten (Schmid 1955/56) Versuchsreihen zum Nachweis von Carboxymethylcellulose-Residuen im Lungen- und Bronchialsystem von Kaninchen nach Bronchographie mit jodhaltigen Kontrastmitteln, denen zur Viskositätserhöhung CMC zugesetzt ist, hat sich die Perjodat-Fuchsin-Reaktion nach Hotchkiss (633, 654, 590), bei der die Polysaccharide durch Perjodsäure in hochmolekulare Aldehyde übergeführt werden, die dann mit Fuchsin-Schwefelsäure (Schiff'schem Reagens) gefärbt werden, an mehreren tausend histologischen Schnitten außerordentlich bewährt. Das Schiff'sche Reagens wurde nach der Vorschrift von Graumann (656) bereitet. Zur Gegenfärbung bei dieser sog. PAS-Reaktion diente Methylgrün, nachdem sich gezeigt hatte, daß das von Hotchkiss (653) empfohlene Malachitgrün keine befriedigenden Färberesultate erbringt. Kontrolluntersuchungen mit CMC (Tylose MGC 2000) ergeben einen stark positiven Reaktionsausfall. Einzelheiten, Darstellung und Diskussion der Versuchsergebnisse werden einer gesonderten Publikation zu entnehmen sein. Für die vorliegende Fragestellung mag der Hinweis auf die methodischen Möglichkeiten genügen. Es wird zu prüfen sein, ob die PAS-Methylgrün-Reaktion auch zur Darstellung von Polysacchariden in den Oberflächenstrukturen der Bakterien, der Kapsel, Zellwand und Cytoplasmamembran herangezogen werden kann.

Die Studien über die Beweglichkeit der Bakterienzelle bilden eines der interessantesten Kapitel der Bakteriencytologie. Eine Monographie über Bakteriengeißeln hat van Iterson (647) vorgelegt. Orskov (649) bewies mit seiner Tuschmethode, daß die Geißeln wohldefinierbare und mit Artefakten nicht zu verwechselnde Elemente der Zellstruktur sind und als kontraktile Bewegungsorgane betrachtet werden können. Weibull (650) und Astbury (651) wiesen an isolierten Geißeln von *Proteus vulgaris* nach, daß ihre Substanz aus zahlreichen Aminosäuren besteht. Cystein, Tryptophan, Histidin und Hydroxyprolin wurden nicht gefunden. Die makromolekularen Proteine weisen eine myosinähnliche Faserstruktur auf. Bei *Proteus* (644), *Pseudomonas* (645), *Spirillum rubrum* (646), *Vibrio metchnikoffi* (647) und *Vibrio cholerae* (648) wurden im Cytoplasma blepharoplastenähnliche Gebilde nachgewiesen. Weibull (652) hat bei *Bac. megaterium* nach Verdauung mit Lysozym die Verbindung der Geißeln mit dem Cytoplasma auch mikroskopisch demonstriert und dadurch mindestens bei diesem *Bacillus* die cytoplasmatische Abstammung der Geißeln bewiesen.

III. Darstellung des Bakterienzellkern

In den letzten Jahren sind morphologisch definierte Körperchen im Innern vieler Bakterien beschrieben worden, die bestimmten Gestaltsveränderungen unterworfen sind und die mit der Vermehrung der Bakterien

in Zusammenhang stehen. Man deutet sie als Bakterienzellkern, der als Steuerungsorgan dem Kern von Zellen höherer Organismen durchaus vergleichbar erscheint. An der Realität dieser Körperchen kann nach den von vielen Untersuchern bestätigten Befunden von Piekarski (264, 265, 496, 497, 498, 499), Robinow (587), Klieneberger-Nobel (500, 501), Stapp (502) u. a. kaum noch gezweifelt werden. Bei Mikrokokken wird übereinstimmend ein zentraler Nukleus beschrieben (594, 602, 603, 604, 605, 606). Bisset (605) beobachtete eine transversale Septenbildung. Webb (606) ist der Ansicht, daß das Nukleoid bzw. der Nukleus in reifen Zellen von *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, der stäbchenförmig, rund oder ellipsoid in Erscheinung tritt, scheibenförmig ist und erst kurz vor der Teilung zu einem sphärischen Körper anschwillt. Amitotische Teilung soll die Regel sein. Mitosen sollen, wenn sie vorkommen, in einer intakten Nuklearmembran, ähnlich bei manchen Protozoen und bei Askomyceten, ablaufen. Diese stark anfärbbare Membran maskiert dann die intranukleären Prozesse. Da die Nuklei junger wachsender Zellen in unfixiertem Zustand eine geringere optische Dichte zeigen wie das sie umgebende Plasma, schließen Mudd und Smith (608) daraus, daß die Bakterienkerne offensichtlich geringere Dichte (Masse pro Volumen) besitzen wie das umgebende Plasma, daß sie von charakteristischer Gestalt und mit dem Plasma nicht vermengt sind. Mudd und Mitarbeiter postulieren einen vesikulären Kern mit Chromatinsubstanzen.

Eine Darstellung dieser Körperchen, die von Piekarski als Nukleoid, von Bringmann als Karyoid, von Robinow als Chromosom und von Preuner und von Prittowitz und Gaffron „als eine Art von Chromosomenäquivalent“ bezeichnet werden, in der lebenden Bakterienzelle ist neuerdings phasenkontrastoptisch gelungen (361). Piekarski setzte bis vor kurzem die ganze Bakterienzelle dem Nukleus der höheren Zelle gleich. Ein Bakterium wäre dann als Kernäquivalent aufzufassen und das Nukleoid der Bakterien würde dann nicht mehr mit dem Nukleus, sondern nur noch mit zunächst nicht näher definierten Teilen des Nukleus sowohl morphologisch wie funktionell vergleichbar sein. Die Nukleotide in Bakterien sind feulgenpositiv, DNS-haltig, wahrscheinlich Träger der Erbsubstanz und könnten daher als Chromosomenäquivalente angesehen werden. Piekarski sah mit diesem Deutungsversuch auch die Forderung nach einer gestaltlichen Kontinuität dieser Körperchen erfüllt. In der Ruhephase könnte, so argumentiert Piekarski, analog der Entspiralisierung bei den Chromosomen die Feulgenstruktur bei Bakterien verschwinden, die DNS diffus verteilt sein oder in einer Form vorliegen, die nicht unmittelbar zur Weitergabe gleicher Anteile bei der Teilung des Gesamtorganismus geeignet ist. Diese Situation liegt bei der ruhenden Spore vor, die nach Jensen (503) beim Übergang zur „vorvegetativen“ Form und dann zum teilungsbereiten Stäbchen tiefgreifende und grundsätzliche Umstellungen in ihrem Gesamtgefüge durchmacht. Wesentlich dabei ist, daß zunächst durch Permeabilitätserhöhung der Sporenmembran die Möglichkeit eines Stoffaustausches mit der Umwelt geschaffen wird. Während des „vorvegetativen“ Stadiums steigt dann der in der ruhenden Spore äußerst niedrige oder vielleicht fehlende Anteil an RNS wahrscheinlich stark an und schließlich konzentriert sich der DNS-Anteil im Zentrum der Spore. Nach neueren Untersuchungen mußte Piekarski (265) seine Vorstellungen revidieren und kam zur Feststellung, daß die DNS-Bestandteile, die Nukleotide, ihre Gestalt grundsätzlich beibehalten, unabhängig von äußeren Faktoren (Nährboden, Einfluß von Medikamenten) sind und keine sogenannte diffuse Phase durchmachen. Stapp (502) konnte bei *Pseudomonas tumefaciens* einen Formwechsel der feulgenpositiven Strukturen in Verbindung mit einer sogenannten „Sternbildung“ nachweisen, in dessen Verlauf die Nukleotide im Zentrum des Sterns miteinander verschmelzen und dann

wieder auseinandertreten. Phasenkontrastoptisch konnten Knöll und Zapf (361) zeigen, daß gerade stark aufgetriebene Zonen, d. h. körperlich dickere Bezirke im Bereich der Bakterienzellkerne helle Struktur (DNS) zeigen gegenüber den räumlich geringer ausgedehnten polaren dunklen Zonen (RNS). Cytochemische Untersuchungen von Hoffman (577) an *Fusobacterium polymorphum*, *Lactobacillus* und *Clostridium septicum* machen es wahrscheinlich, daß man an den „intracellular bodies“ eine aus RNS bestehende Cortex und eine DNS enthaltende Medulla unterscheiden kann. Bei der sich vermehrenden und wachsenden Bakterienzelle erkennt man eine rhythmische Differenzierung in Hell- und Dunkelzonen. Die Hell-Dunkel-Struktur lebender Bakterien wird primär dem Aufbau und Wechsel des RNS- und DNS-Gefüges zugeschrieben (434). Die übereinstimmende Lage der kontrastarmen Zonen mit den Kernäquivalenten macht es nach den Befunden von Winkler, Knoch und König (455) sowie Bringmann (519) wahrscheinlich, daß die kontrastreichen Zonen mit der Anreicherung von RNS in Zusammenhang stehen. Nach Tulasne und Vendrely besteht das Kernmaterial der Bakterien aus DNS-Granula, die ausschließlich eine direkte Zweiteilung eingehen. Die Zweiteilung ist linear, wenn die Breite des Bakterienkörpers die der Granula nur um wenig übertrifft, sie geht nach einer schraubenförmigen Bewegung vor sich, wenn die Bakterien sehr groß sind. Die Kerngranula sind in der Mehrzahl der Fälle das Ergebnis einer Zusammenballung von Elementarteilchen, die die totale genetische Ausrüstung des Bakteriums enthalten.

Mit dem Fluoreszenzmikroskop konnte Krieg (504) nach Acridinorange-Fluorochromierung den Nachweis von Kernäquivalenten in Bakterien führen. Die Beobachtung ergab nun im Gegensatz zu Piekarski und Schuler (505) bei den untersuchten gramnegativen Bakterien (*E. coli*, *Proteus vulgaris*) keine einzelnen Nukleole in den Zellen, sondern eine der großen Bakterinenachse in ihrer Orientierung folgende intensiv grün fluoreszierende Spiralstruktur. Diese ist in ihrer Ausgestaltung abhängig von der Entwicklungsphase der Bakterien. Ruhende Bakterien sind klein und färbereich ziemlich indifferent, während sich die Spiralstruktur zu Beginn der Wachstumsphase optimal herausdifferenziert. Im weiteren Verlauf der logarithmischen Phase verliert sich diese Differenzierung in gleichem Maße wie sich die Größe der Bakterien reduziert. In übernormal ausgebildeten Zellen findet man entweder eine einzige große Spirale oder aber eine Reihe von Fragmenten derselben, deren Zahl Potenzen von 2 darstellen. Offenbar geht eine Teilung des Chromatins der eigentlichen Zellteilung voraus. Die kernäquivalente Spiralstruktur endet beidseitig meist in kleinen Anschwellungen, und zwar in der Gegend, in der man sonst die Piekarski'schen Nukleole findet. Die Nukleole sind demnach nach Ansicht von Krieg optisch günstig gelegene Teilstrukturen (Pole?) der beschriebenen Kernspirale bzw. deren Fragmente.

Borchert und Helmcke (55) bemerken zur Fluorochromierung lebender und toter Zellen mit Acridinorange, daß sich der basische Vitalfarbstoff in Lipochondrien, Golgi-Apparat und paraplasmatischen Strukturen — Mitochondrien — anreichert, während das Grundplasma ungefärbt bleibt. Die in lebenden Zellen rot fluorochromierten Strukturen geben nach Abtötung Farbstoff ab, wodurch das bisher ungefärbte Grundplasma grün angefärbt wird.

Zamenhof und Chargaff (214) gelang es, die DNS aus *Haemophilus influenzae* weitgehend zu reinigen und bei transformierender Aktivität zu erhalten. Bei cytologischen Untersuchungen an *Bac. megatherium* und *E. coli* mit Hilfe ultradünner Schnittserien konnte in jüngster Zeit durch Piekarski und Giesbrecht (592) und Piekarski und Pontieri (668) bei elektronenmikroskopischer Betrachtung in den Kernäquivalenten chromo-

somale Strukturen wahrscheinlich gemacht werden. Piekarski und Mitarbeiter sehen damit die Existenz eines Bakterienzellkerns als erwiesen an und wollen den Begriff des Nukleoids durch den Begriff des Nukleus ersetzt wissen. Yuasa (669) gelang nach Vorbehandlung mit 10%iger Perchlorsäure und nachfolgender Färbung des nicht erhitzten Präparates mit 1%iger wäßriger Gentianaviolett-Lösung bei *Bac. megatherium* die Darstellung von Kern und Spindel in Teilung und Sporulation. De Lamater und Woodburn (602) sahen bei *M. cryophilus* Zentriolen und Teilungsspindeln. Auch bei *Shigella dysenteriae* konnten durch Whitefield und Murray (670) ähnliche Befunde erhoben werden. Das Vorhandensein von Chromosomen in Bakterien hatten schon früher Chapman und Hilliar (890) sowie Birch-Andersen und Mitarbeiter (891) postuliert. Die Mitosen laufen innerhalb der Bakterienzelle nur bei intakter Nuklearmembran ab (889).

Versuche von Lederberg und Tatum (726), Demerec (727), Newcombe und Nyholm (728) sowie von Cavalli (729), die gezeigt haben, daß eine ganze Reihe von Genen im Bakterium ähnlich wie in einem Chromosom angeordnet sein müssen und daß Genaustauschbilder bei Mischung sensibler und resistenter Vertreter zu erhalten sind, erscheinen nun in einem neuen Licht. So soll die allmählich oder nur schrittweise sich entwickelnde Resistenz von Penicillin meist durch Beeinflussung mehrerer Gene bedingt sein, während die Einschnitt-Mutation vom Streptomycin-Typ an einen Genort gebunden erscheint. Weitere wichtige Beweise für die genetische Abhängigkeit der Resistenz konnte Hotchkiss erbringen, dem es gelang, DNS aus Penicillinresistenten Pneumokokken darzustellen und durch Übertragung auf sensible Stämme diese Penicillin-resistent zu machen.

Von entscheidender Wichtigkeit ist die Feststellung, daß die Übertragung von Eigenschaften mit DNS auch in Mischungen von sensiblen und resistenten Stämmen unter dem Einfluß eines Antibiotikums in der Weise erfolgen, daß nach Lysierung sensibler Zellen, deren DNS von resistenten Zellen aufgenommen wird und dadurch neue vererbare Eigenschaften auf diese übertragen werden (Lysistransformation). Auf diesem Wege gelingt es z. B. die Eigenschaft einer Streptomycinresistenz von Penicillin-sensiblen Pneumokokken auf Penicillin-resistente zu übertragen. Alexander und Leidy (193) konnten auf diesem Wege *H. influenzae* durch Übertragung von DNS streptomycinfest machen. Die Möglichkeit einer spontanen Mutation ist ausgeschlossen, da dieser Vorgang durch DNS-ase zu unterbinden ist.

Damit scheint der wissenschaftliche Streit um die Existenz eines Bakterienzellkerns endgültig beigelegt zu sein und wir glauben uns berechtigt, mit Bradfield (594) die Bakterienzelle in Funktion und Aufbau gleichberechtigt neben die sonstigen pflanzlichen und tierischen Zellen zu stellen.

Die **Untersuchungsmethoden**, die zur Entscheidung der Zellkernfrage bei Bakterien herangezogen werden, beruhen alle auf mikrochemischen Reaktionen der zellkernspezifischen DNS bzw. ihrer spezifischen Färbung. Die „Ausblendung“ der bei der Kerndarstellung störenden RNS wird entweder durch Hydrolyse mit HCl (Boivin) oder Perchlorsäure (Cassel-589) oder durch wechselseitigen fermentativen Abbau bewirkt. Nach allen diesen Eingriffen kommt es zum Verlust der Färbbarkeit der RNS. Diese allgemeine Färbbarkeit, die bei allen basischen Farbstoffen gleichermaßen festzustellen ist, beruht auf dem hohen Gehalt des Bakterienleibes an RNS. Dadurch wird die Feulgenstruktur „maskiert“ (Piekarski).

Durch die Verwendung von Ribonuklease und Desoxyribonuklease gelingt die positive und negative Darstellung des Kernbezirkes.

Zur färberischen Darstellung der Innenstruktur der Bakterien können folgende Methoden herangezogen werden:

1. Feulgen'sche Nuklealreaktion

Feulgen (662) hat eine allgemeine anerkannte Methode zur isolierten histochemischen Darstellung der DNS entwickelt. Prinzip: Der eigentlichen Färbung geht eine Hydrolyse voraus. Durch die HCl-Einwirkung werden die Purinkörper Adenin und Guanin aus der DNS (Thymonukleinsäure) abgespalten. Der verbleibende Rest (Thyminsäure) reagiert durch freie Aldehydgruppen mit fuchsin-schweflicher Säure. Das Ergebnis ist eine rot-violette Färbung. Durch die Hydrolyse werden gleichzeitig andere Stoffe umgelagert bzw. eliminiert, so daß an ihnen entsprechende Aldehydreaktionen nicht mehr ablaufen können.

Die Feulgen-Reaktion wurde durch Stille (506) und Piekarski (507) in die Bakteriencytologie eingeführt. Mit Hilfe dieser mikrochemischen Reaktion gelang erstmals der Nachweis lokalisierter Bakterienzellkerne. Die klassische und lange Zeit einzig anerkannte Methode zum Nachweis der DNS ist umständlich und technisch nicht ganz einfach, kann aber doch zur Kontrolle und Bestätigung der Ergebnisse, die mit anderer eleganter Methodik zu erzielen sind, herangezogen werden. Eine fallweise diffuse Feulgen-Reaktion erklärt Lederberg (578) mit einer ungeeigneten Fixierung und der drastischen Behandlung bei der Säurehydrolyse. Wie bereits erwähnt, hat sich die Ansicht von Knaysi (579) nach der in einer bestimmten Entwicklungsphase ein diffuser Nukleus angenommen wird, als nicht zutreffend erwiesen.

2. Verlängerte Giemsa-Färbung mit nachfolgender vorsichtiger Alkoholdifferenzierung

Der histochemische Nachweis von RNS + DNS kann durch die Giemsa-färbung erbracht werden (241, 244). Quantitative Studien über das Mengenverhältnis verdankt man Vendrely (239). Das bei der Giemsa-Färbung sichtbar werdende Feulgen-positive Kernäquivalent ist reich an DNS. Den Beweis haben Boivin und Mitarbeiter durch fermentativen Abbau mit Desoxyribonuklease geführt. Die anfänglich empirische Beobachtung, daß sich RNS-haltige Strukturen nach Giemsa vorwiegend blau, DNS-haltige Strukturen vorwiegend rotviolett färben, wurde von Jacobsen und Webb (508) durch Befunde an isolierten Nukleoproteinen gestützt.

Die Farbkontraste bei der Giemsa-Färbung sind gering. Die Darstellungsmethode ist deshalb besonders auch zur photographischen Wiedergabe nicht zu empfehlen.

3. HCl-Giemsa-Methode nach Robinow

Wendet man anstelle der fuchsin-schweflichen Säure normale Kernfarbstoffe (Giemsa-Lösung, Gentianaviolett, Fuchsin) an, so erhält man der Feulgen-Reaktion entsprechende Bilder, da die im ganzen Bakterienleib diffus verteilte RNS durch die Hydrolyse ihre Eigenschaft verliert, die gleichen Farbstoffe anzunehmen.

Preuner (509, 391) färbt z. B. mit gewöhnlichem wäßrigem Fuchsin nach. Bei der HCl-Fuchsin-Methode nach Preuner wird zunächst 10 Minuten in Chabaud'scher Lösung (600 ml 80%iger Alkohol + 150 ml Phenol + 50 ml Formalin + 20 ml Eisessig) fixiert, dann 10 Minuten mit n/HCl bei 60 Grad C hydrolysiert und schließlich 30 Sekunden mit einer 0,1%igen wäßrigen Lösung von basischem Fuchsin gegengefärbt.

Nach der Modifikation von Smith und Mudd (510) wird mit Osmiumdämpfen fixiert und im Anschluß an die HCl-Hydrolyse mit 1%iger Formaldehydlösung 2—4 Minuten lang gebeizt. Die Nachfärbung erfolgt mit 0,3%igem wäßrigem basischem Fuchsin. Die Hydrolyse wird im allgemeinen durch 7—10 Minuten lange Behandlung der Bakterien mit n/HCl bei 60 Grad C erreicht. Bei schonenderer Behandlung arbeitet man bei 42 Grad C oder sogar bei Zimmertemperatur 1—2 Stunden lang.

Fleming und Mitarbeiter (293) empfehlen zur Darstellung der Nukleotide eine Hydrolyse mit Salpetersäure mit nachfolgender Sukzessivfärbung mit Brilliantkresylblau und der Farblösung nach Leishman. Nach eigenen Erfahrungen bietet diese Methodik keinerlei Vorteile gegenüber den anderen Hydrolyseverfahren. Die Bilder sind sehr farbschwach.

4. Fermentativer Abbau der RNS und DNS durch Nukleasen

Dieses Vorgehen wurde von der französischen Schule von Vendrely und Lipardi (511) und Boivin, Tulasne, Vendrely und Minck (512, 513) empfohlen. Anstelle der HCl-Hydrolyse werden die Bakterien nach Fixierung mit Ribonuklease bzw. Desoxyribonuklease behandelt und nach Giemsa gefärbt. Nach Bassermann (518) sind die Wirkungen der DNS-ase abhängig von der Fixierung, der Wasserstoffionenkonzentration, der Enzymkonzentration, der Temperatur und der Inkubationsdauer. DNS-ase wirkt, wie wir bereits gesehen haben, nur auf fixierte Objekte. Eine monomolekulare Proteinschicht kann ihren Wirkungsansatz bereits verhindern. Die Beurteilung der Wirkung, abgesehen von einem sicheren proteolytischen Effekt, muß demnach mit äußerster Zurückhaltung erfolgen.

5. Perchlorsäure-Fuchsin-Methode nach Cassel (589)

Die Behandlung mit Perchlorsäure bei + 4 Grad C. ermöglicht eine isolierte Entfernung von Ribosepolynukleotiden. Nicht nur in der Bakteriologie sondern auch in der Histologie und Cytologie bedient man sich dieser Methode weitgehender Selektivdarstellung von DNS-Strukturen (595, 438).

Die Klatschpräparate werden nach Fixierung in Schaudinn'scher Lösung (63 ml 6%ige Sublimat-Lösung + 32 ml 95%iger Äthylalkohol + 5 ml Eisessig — Fixierungsdauer 20 Minuten) oder Osmiumdämpfen (Fixierungsdauer 1,5 Minuten) mit 10 %iger Perchlorsäure während 15—40 Stunden bei + 4 Grad C. behandelt. Die Vorbehandlungszeit variiert je nach Bakterienstamm und muß vor Versuchsbeginn jeweils in ihrem Optimum bestimmt werden. Die Kontrastfärbung erfolgt mit 0,1%igem wäßrigem Fuchsin 30 Sekunden lang. Der unbestreitbare Vorzug der Methode liegt darin, daß die bei der Feulgen- und Robinow-Methode für die HCl-Hydrolyse erforderliche hohe Temperatur von 60 Grad C — beim Arbeiten mit 42 Grad C. oder gar bei Zimmertemperatur können in der Regel keine befriedigenden Resultate erzielt werden — nicht benötigt wird und damit der Einwand entkräftet werden kann, daß die dargestellten Kernstrukturen als Kunstprodukte infolge Hitzeeinwirkung zu gelten haben. Die Methode hat sich in eigenen Versuchen außerordentlich bewährt und wurde, nachdem einwandfrei feststand, daß die damit erhobenen Befunde mit der Feulgen-Nuklealreaktion und der HCl-Fuchsin-Methode nach Preuner übereinstimmen, routinemäßig eingesetzt. Ein Versuch zur Bestimmung der optimalen Perchlorsäure-Expositionszeit bei Mikrokokken, insbesondere bei dem zu den Untersuchungen verwendeten Teststamm *Micrococcus pyogenes* var. *aureus haemolyticus* 209 P ATCC (Nr. 6338 P) bei einer Fixierung in Chabaud'scher Lösung (10 Minuten) und einem Kulturalter von 4—72 Stunden, hat ergeben, daß nach 30 Stunden die Nukleotide in optimalem Kontrast zur noch leicht angedeuteten Plasmakontur hervortreten. Über 30 Stunden, geprüft wurde in dreistündigen Intervallen von 3—42 Stunden, sind nur noch „freie“ Kerne ohne Plasmabezug nachzuweisen. Nach 6stündiger Perchlorsäure-Exposition ergibt sich bereits ein hinreichender Nukleoid-Kontrast. Dieses Schnellverfahren kann zur vorläufigen Orientierung herangezogen werden.

Die Verwendung von Schaudinn'scher Lösung zur Fixierung empfiehlt sich nicht, da entweder heiß bei 60—70 Grad C. kurzfristig oder nach der Vorschrift von Schaudinn und Apathy langfristig über 12—24 Stunden

fixiert werden muß. Die Kurzzeitfixierung mit der Lösung nach Chabaud hat den weiteren Vorzug, daß die Schrumpfungerscheinungen, an sich bei der Alkoholbehandlung unvermeidlich, nicht so ausgeprägt sind wie nach Verwendung der Schaudinn'schen Lösung. Bei Schaudinn-Fixierung erscheint die Kokkengröße gegenüber Chabaud-Fixierung geringgradig verkleinert. Der allerdings nur unwesentliche Vorzug der Schandinn-Fixierung liegt in einem deutlicheren Kontrastbild nach 15tündiger Perchlorsäure-Einwirkung.

6. Pyronin zur RNS-Darstellung und Methylgrün zur DNS-Darstellung nach Unna

Diese Möglichkeit sei nur der Vollständigkeit wegen erwähnt. Auch die RNS in Bakterien ist pyrinophil (590). Die kombinierte Pyronin-Methylgrün-Darstellung der RNS- und DNS-Komponenten ergibt undeutliche Bilder mit ungenügendem Blau-Rot-Kontrast. Es bleibt sich dabei gleich, ob man unfixiert oder nach Alkoholfixierung mit oder ohne Erwärmen 10 oder 15 Minuten färbt.

7. Azur-Eosin-Darstellung der Nukleotide

Tronnier (584) stellt die Nukleotide mit einer modifizierten Romanowsky-Färbung dar. Bei dieser Darstellungsmethode wird die Säurehydrolyse bei 60 Grad C., die bekanntermaßen tiefgreifende Strukturveränderungen setzt, vermieden und man erhält Bilder von ausreichender Farbstärke und Kontrastdichte. Die Nukleotide sind leuchtend rot, das Bakterienzellplasma rauchblau. Bacillen aus älteren Kulturen färben sich massiv blau an, ohne daß eine Innenstruktur zu erkennen ist. Nach der Vorschrift von Tronnier färbt man nach Fixierung des noch feuchten Präparates mit Osmiumtetroxyd (2%ig) und Alkohol (30 Sekunden) in jeweils frisch bereiteter Mischung aus gleichen Teilen Azur (0,32 g Azur-I-Bayer auf 1000 ml Aqua dest.) und Eosin (0,27 g Eosin-Bayer auf 1000 ml Aqua dest.), gramnegative Keime 5 Minuten, grampositive 15 Minuten und säurefeste 30—45 Minuten, spült ab und läßt trocknen. Statt Eosin kann, wie eigene Versuche gezeigt haben, auch Erythrosin verwendet werden. Ein weiterer Vorteil der Färbung besteht darin, daß sie mit Alkohol entfernbar ist, so daß anschließend weitere Färbungen möglich sind.

8. Negativ-Darstellung der Nukleotide bei Janusgrün-Vitalfärbung

Bei den später zu erörternden Versuchen zur Darstellung der Bakterien-mitochondrien fielen zunächst im gleichmäßig grün gefärbten Bakterien-leib von Vegetativformen des *Bac. cereus* und dann später auch bei *E. coli* multiple runde ungefärbte Negativbezirke auf, die bei *Bac. cereus* in der Vielzahl, bei *E. coli* dagegen gewöhnlich in der Zweizahl zu sehen sind. Auch bei Präparaten, die mit Perchlorsäure 10%ig bei 4 Grad C. über 30 Stunden behandelt und mit Fuchsin gegengefärbt wurden, werden diese Negativbezirke beobachtet. Nach 10 Minuten dauernder Bebrütung von 4-stündigen Kulturen von *E. coli* und *Bac. cereus* bei 37 Grad C. unter Zugabe von einigen Tropfen einer 1%igen TTC*-Lösung und nachfolgender Färbung mit Janusgrün zeigten sich gleichzeitig mit den roten Formazanablagerungen und der grünen Grundfarbe Janusgrün-negative runde, bei *E. coli* in der Ein- oder Zweizahl selten multipel mittelständig oder exzentrisch liegende Bezirke. Diese runden, also in ihrer Konfiguration wohl definierten Janusgrün-negativen Bezirke darf man wohl als Nukleotide oder noch besser als Nuklei ansprechen; umsomehr als sie in Größe, Lage und Gestalt den Feulgen-positiven Strukturen entsprechen und eine Verwechslung mit Sporen oder deren Vorstufen (die allerdings auch, aber als wesent-

*) TTC = Triphenyltetrazoliumchlorid

lich größere Janusgrün-negative Strukturen imponieren, nachgewiesen übrigens gleichfalls bei Nichtsporenbildnern wie *B. coli*) ausgeschlossen erscheint. Eine Isotopie von Nukleus und Reduktionszentrum kann demnach bei *E. coli* und *Bac. cereus* nur eine rein zufällige Pseudoisotopie durch Überlagerung beider Strukturen sein. Nach Inaktivierung im Wasserbad, 30 Minuten bei 62 Grad C. und nachfolgender Inkubation mit TTC sind wohl die Janusgrün-negativen Bezirke, nicht aber die Formazanpartikelchen nachweisbar. Bei *B. coli*, geprüft wurden 4- und 24stündige Kulturen, gelingt die Negativdarstellung der Bakteriennuklei auch nach Hitze-fixierung mit der Gram-Färbung unter Verwendung einer stark verdünnten Fuchsinlösung (1:10) bei einer maximalen Exposition von 15 Sekunden.

Bei Mikrokokken ist bei Janusgrün-Vitalfärbung, Kombination von Janusgrün mit TTC ohne und mit nachfolgender Inaktivierung bei 62 Grad C. kein helles Zellzentrum festzustellen. Demgegenüber zeigt sich bei der Färbung mit der Farblösung 6120/12 — Ciba sowie bei alleiniger TTC-Behandlung gelegentlich auch bei Mikrokokken ein runder ungefärbter Zentralbezirk. Daneben treten auch Bandformen und Semmelformen auf.

9. Eine Methode zur Isolierung cytoplasmareiner oder cytoplasmareiner „nackter“ Bakterienzellkerne nach mechanischer Zerstörung der Zellwand ist nicht bekannt. Nach kurzdauernder (10 Minuten) Beschallung von Milzbrandbacillen mit Ultraschall beobachten Mudd und Mitarbeiter (627) Zellwandläsionen, Kettenfrakturierung und Entleerung des Zellinhaltes. Curran und Evans (629) erreichten eine Ruptur der Bakterienzellwand in einer Schüttelmaschine unter Verwendung von Glaskügelchen von 0,2 mm Durchmesser. Mickle (628) konstruierte einen Vibrator zur mechanischen Zerstörung der Zellwand. King-Alexander (630), sowie Hein (631) bedienten sich dieser Zertrümmerungsmethode zur Herstellung von Bakterienextrakten. Dawson, Salton und Horne modifizierten das Mickle-Verfahren mit dem Ziel, genügende Mengen protoplastenfreier Zellwände zur chemischen Analyse zu gewinnen. Tomcsik (643) schüttelt die Bakteriensuspension mit $\frac{1}{4}$ Volumanteil Glaskügelchen. Die so bombardierten Bakterien entleeren innerhalb kurzer Zeit ihr Protoplasma. Die Zellwände der Bazillen weisen seitliche Risse auf, aus denen das Cytoplasma abfließen kann. Nossal konstruierte zur Herstellung zellfreier Extrakte eine Schüttelapparatur, die sich bei einer Leistung von 5600 r. p. m. und einer Amplitude $5/8$ “ baulich einfacher und dabei wirksamer als der Mickle-Vibrator erwiesen hat (671, 672). Selbst beim Mischen oder beim Ausstreichen einer Bakteriensuspension mit der Platinöse auf dem Objektträger können Bruchstellen auftreten und das Plasma kann ausfließen (643). Wamoscher (633) brachte das Cytoplasma durch Druck mit der mikrurgisch feinen Nadel zum Ausfließen. (Beobachtung am *Bacillus Mazum* im Dunkelfeld).

Eigene Versuche mit dem Ziel der Darstellung cytoplasmareiner oder cytoplasmareiner Bakterienzellkerne wurden mit Hilfe eines von Kurz, Merckenschlager und Schloßmann zur Zellhomogenisierung konstruierten Vibrators vorgenommen. Das Funktionsprinzip der Apparatur ist denkbar einfach. Mit Hilfe der rotierenden Achse eines Wechselstrommotors, an der sich ein Exzenter befindet, wird ein Stahlrohr in Schwingungen versetzt. In dieses Stahlrohr kann eine Metallkapsel oder aber auch ein dickwandiges Zentrifugenglas, das mit kleinen Glaskügelchen und dem zu zerschlagenden zelligen Material zu beschicken ist, eingesetzt werden. Eine angeschlossene Kühlanlage, der Mantel des Stahlrohres kann im Kohlen-säurestrom nach Belieben gekühlt werden, verhindert eine Überhitzung und Denaturierung des biologischen Materials während des Betriebes. Der maximale Wirkungsgrad beträgt ca. 4000 Schwingungen pro Minute. Ein Vorversuch mit Hefezellen ergab, daß die Zellen bei 4000 Schwingungen/min. nach einer Expositionszeit von 30 Minuten zu 90% zerschlagen sind.

Die meisten Hefezellen haben Wandrisse, durch die das Cytoplasma ausgetreten ist und zwischenzellig als Detritus in Erscheinung tritt, oder sind frakturiert. Bei Spermien wird der Kopf von Hals und Schwanzfaden getrennt, bei längerer Exposition wird auch ein Teil der Köpfe zertrümmert. Eine 18stündige Kultur von *Micrococcus pyogenes* var. *aureus haemolyticus* ATCC angezüchtet auf Brain Heart Infusion Broth-DIFCO zeigt vor Versuchsbeginn im nach Gram gefärbten Ausstrichpräparat normale grampositive Färbbarkeit, die Einzelkokken sind normal konfiguriert und in Trauben gelagert. Das mit Janusgrün gefärbte unfixierte Präparat (Nativpräparat) ergibt ebenfalls keine von der Norm abweichenden Befunde. Nach Zerschlagung bei ca. 4000 Schwingungen/min. zeigt sich folgendes Bild: Bereits nach 10 Minuten finden sich im Gram-Präparat viel Detritus, Kokkenschatten, fast nur grampositive Einzel- oder Diplokokken bei auffallend wenigen Normalformen. Das Janusgrün-Bild ist demgegenüber weitgehend normal. Nach 20, 30 und 40 Minuten bleibt das Bild praktisch unverändert. Nach 50 Minuten findet man außer wenigen stark angeschlagenen Einzelkokken nur gramnegativen Detritus. Das Janusgrün-Bild bleibt weiterhin in Ausfärbung und Konfiguration der Einzelkokken normal. Nach 60 Minuten sind praktisch keine normal konfigurierten Zellen mehr zu sehen. Nach 90 Minuten beobachtet man einen gramnegativen, schwach lilagefärbten feinkörnigen bzw. kleinscholligen Zelldetritus. Im Janusgrün-Bild ergaben sich auch zu diesem Zeitpunkt keinerlei Veränderungen. Nach einer Expositionszeit von 120 Minuten schließlich sind neben vereinzelt gramnegativen Einzel- und Diplokokken nur noch gramnegative amorphe Detritusmassen festzustellen. Im mit Janusgrün gefärbten unfixierten Nativpräparat sind die Kokken zwar einzeln gelagert, aber normal konfiguriert und ausgefärbt. Lediglich die Anzahl scheint gegenüber dem Befund nach 90 Minuten deutlich reduziert. Nach Filtration durch Original Seitz EK-Serum-Filter und Inkubation des Filtrates in Brain Heart Infusion Broth DIFCO bei 37 Grad C während 48 Stunden ist kein Keimwachstum festzustellen.

IV. Darstellung der Bakterienmitochondrien

Nach Mudd (520) sind Bakterienmitochondrien cytoplasmatische Körper, die im Phasenkontrastverfahren dunkel erscheinen, im Elektronenmikroskop als typische, stark elektronenstreuende Granula darstellbar sein sollen, eine begrenzende Membran besitzen und koordinierte Systeme von oxydierenden und reduzierenden Enzymen, Phospholipoide, die mit der Baker'schen Säure-Hämatin-Färbung dargestellt werden können (569, 570) und wenigstens in gewissen Fällen Polymetaphosphate enthalten. Die größeren Bakterienmitochondrien sind langgestreckte Ellipsoide, die kleineren teilweise sublichtmikroskopischen erscheinen als Kugeln. Zur Zeit ist es nicht möglich, die kleineren Gebilde als Mikrosomen von den größeren Mitochondrien abzutrennen, wenn auch mit großer Wahrscheinlichkeit funktionelle Unterschiede zwischen verschiedenen Mitochondrien innerhalb derselben Zelle und bei verschiedenen Arten anzunehmen sind. Auch Mitochondrien können sich teilen und wieder verschmelzen (Mudd). Mudd und Mitarbeiter (521) sahen auch in der Umgebung der als Mitochondrien gedeuteten stark elektronenstreuenden Körper diffuse Massen von mittlerer Elektronenstreuung, die sie als RNS-Proteide ansehen, die dort mit Hilfe der von den Mitochondrien gelieferten Energie synthetisiert werden.

Die Bakterienmitochondrien sind somit völlig gleichberechtigt an die Seite der Mitochondrien der Makroorganismenzelle zu stellen, die bekanntlich vom ultrastrukturellen Gesichtspunkt aus als spezifisch organisierte Zellbestandteile, die von einer Membran umgeben sind und eine periodisch angeordnete Innenstruktur aufweisen, aufgefaßt werden. Funk-

tionell sind sie Träger der biologischen Oxydation, des Trikarbonsäure-Zyklus und der Synthese der energiehaltigen organischen Phosphate, besonders des ATP*) (657).

Kellenberger (522, 585) definiert als Chondrioid den mit Janusgrün färbbaren, TTC-reduzierenden, im Phako- und E-Mikroskop*) dunkel mit unscharfer Begrenzung darstellbaren Polkörper.

Vendrelly (523) unterscheidet zwei verschiedene Typen von Granula: 1. Metachromatische Granula, die in Hefen und Bakterien nicht regelmäßig vorkommen und vom Kulturalter und vom Phosphatgehalt des Nährmediums abhängen. (Volutin bestehend aus Polymetaphosphaten und RNS, Feulgen-Reaktion ist negativ). 2. Intracytoplasmatische Granula oder Mitochondrien enthalten Phospholipoide, Cytochromoxydase und Dehydrogenasen. Da die Zellkerne höherer Lebewesen keine oder wenige Atmungsenzyme enthalten, ist eine Beziehung der Mitochondrien zu den Bakterienzellkernen unwahrscheinlich. Abweichende Interpretationen der Versuchsergebnisse, denen allerdings die allgemeine Anerkennung versagt geblieben ist, haben Bisset, Knaysi und Bassermann gegeben. Bisset (524) faßt die Granula als Trocknungsartefakte, die aus geschrumpftem Cytoplasma und Querwänden (Septen) multicellulärer Keime bestehen sollen, auf. Knaysi (525) und Bassermann (526) deuten die cytoplasmatischen Granula als identisch mit den Feulgen-positiven Bakterienkernen. Den lokalisierten Fermentnachweis in den „polaren Körpern“, d. h. in den Mitochondrienäquivalenten einer größeren Zahl von Bakterien, haben Wachstein und Pisano mit der TTC-Methode erbracht (580).

Bielig, Kausche und Haardick (233, 527) postulieren eine Isotopie der „Reduktionszentren“ mit den Bakterienkernen. Sie fanden für die Bakterienkerne im UV-Mikroskop ein etwa 15fach kleineres Volumen wie die Reduktionszentren, die mit der Feulgen-Färbung diffuser dargestellt werden können.

Bringmann (581) ist der Ansicht, daß die Polymetaphosphatgranula bei *Corynebacterium diphtheriae* und bei *Mycobacterium avium* fakultativ isotop mit den Kern- und Mitochondrienäquivalenten (Karyoiden) auftreten, und sieht den gemeinsamen Ursprung der phylogenetischen Entwicklung von Zellkern und Mitochondrien bzw. von diesen ableitbaren Zellorganellen als möglich an.

Nach den Arbeiten von Preuner und v. Prittwitz-Gaffron (261, 263), Hahn (528), Winterscheid und Mudd (571) und Tronnier (584) können jedoch keine Zweifel mehr darüber bestehen, daß keinerlei enge funktionelle Beziehungen zwischen Bakterienkernen und Mitochondrien bzw. Granula bestehen. Cytoplasmatische Granula mit Mitochondriencharakter sind bisher nachgewiesen bei Mykobakterien (563, 571), *Escherichia*, *Bacillus*, *Micrococcus* (572), *Proteus* (573) und *Salmonellen* (554). Die extranukleäre Lagerung der enzymatisch aktiven Granula kann durch kombinierte Mitochondrien- und Kernfärbungen bewiesen werden (573).

Auch in den Grana von Ascites-Tumorzellen lassen sich Reduktionsorte mit TTC lokalisieren (574).

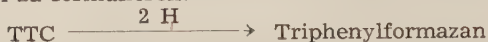
Bei den bereits erwähnten cytologischen Untersuchungen am *Bac. megatherium* mit Hilfe ultradünner Schnitte durch Piekarski und Giesbrecht (592) zeigten sich e-optisch die Fermentzentren als kleine „Plasmavakuolen“ neben den definierten Kernstrukturen. Selten konnten in diesen Plasmavakuolen Innenstrukturen nachgewiesen werden. Bereits Chapman und Hillier (593) beschrieben sogenannte „empty granules“ und Bradfield (594) sah „cytoplasmic vacuoles“.

*) ATP = Adenosintriphosphorsäure

*) E-Mikroskop = Elektronen-Mikroskop

1. Vitaldarstellung mit Triphenyltetrazoliumchlorid und Neotetrazoliumchlorid

TTC und NTC sind als Redoxindikatoren im Platten- und Röhrchentest geeignete Indikatoren zur Bestimmung der Stoffwechselintensität der Bakterien. Nach Jerchel und Möhle (17) ist die dabei ablaufende Reaktion folgendermaßen zu formulieren:



Tetrazoliumsalze sind ähnlich dem Curare quaternäre Ammoniumverbindungen und daher in pharmakologischer und toxikologischer Hinsicht keinesfalls indifferente Körper (250).

Kennedy und Barbara (74) berichten über einen Wuchshemmeffekt bei Koagulase negativen Mikrokokken bereits bei einer TTC-Konzentration von 0,0025% im Nährmedium.

Der fermentgesteuerte Transport von Wasserstoff d. h. Oxydo-Reduktionen spielen im Bakterienstoffwechsel eine wichtige Rolle. Man nimmt an, daß diese Reaktion den Schluß zuläßt, daß Flavoprotein-Enzymsysteme in wirksamer Form in der Zelle vorhanden sind (23, 250, 564, 565). 2, 3, 5-TTC wird von Bakterien zu rotem Formazan reduziert (Preuner 261, 263, Wundt 262). Die Reduktionsstufe von NTC bildet ein dunkelblaues Korn (167). Auch Organismen der PPL-Gruppe bilden allerdings stark verzögert und nur in anaerobem Milieu Formazan (23). Formazan wird durch fermentative Hydrierung gebildet (527). Die Stärke der Reduktionsfähigkeit geht mit der Wachstumsintensität der Bakterien parallel (Wallhäuser 272, 274). Auf festen Nährböden kann es zu lokalen Substratverarmungen und damit zu verzögerter TTC-Reduktion kommen (263). Nach Stille (586) erlischt das TTC-Reduktionsvermögen entgegen den Angaben von Bielig-Kausche-Haardick mit dem Eintreten des Hitzetodes. Bei Temperaturen über 50 Grad C tritt bereits eine deutliche Verminderung der Formazanbildung ein.

Schönberg schlägt vor, TTC in der Lebensmitteluntersuchung zur Feststellung des Verunreinigungsgrades der Milch durch Bakterien einzuführen. Je nach dem Grad der Verunreinigung zeigt die Milch eine entsprechende Rotfärbung durch Formazan (517).

Im Röhrchentest glaubt v. Holt (921) unter Verwendung von TTC den Nachweis einer Wachstumsteigerung von Bakterien durch eine spezifische Antibiotikawirkung in unterschwelliger Konzentration erbracht zu haben. Ein 1%iger Spray von TTC erweist sich als indifferent. Mikroskopisch soll das Formazan im Nukleinsäuregerüst der Bakterienstruktur sichtbar sein (Bielig). Bei *E. coli* sind auf Grund der Reaktionsergebnisse mit NTC die polaren Regionen als Sitz der Dehydrogenasen anzusehen (177). Weibull (532) stellt in Frage, daß die Formazanfärbungen die wirklichen Reduktionsorte in den Bakterien zur Darstellung bringen. Bei fortlaufender phasenkontrastoptischer Beobachtung von *Bac. megatherium* unter Einwirkung von TTC (50—500 Gamma/ml) ließ sich das Formazan zuerst in Form von diffus über die ganze Zelle verteilten kleinen sogenannten „primären“ Granula erkennen, die dann zu einem oder zwei „sekundären“ Granula verschmolzen. Nach Abschluß der Reaktion etwa nach 10 Minuten fand keine weitere Veränderung mehr statt. Nach Zellzertrümmerung durch hochfrequenten Schall und Zentrifugierung sedimentiert mit den Zelltrümmern auch alles Formazan. Die praktisch farblose überstehende Flüssigkeit reduziert TTC bei photometrischer Kontrolle fast ebenso schnell, wie eine entsprechende Kontrolllösung. Hieraus wird geschlossen, daß die sedimentierten „sekundären“ Formazangranula nicht die Reduktionsorte sein können. Chemisch reduziertes TTC lieferte nämlich runde liche Formazanteilchen von derselben Größenordnung und demselben Aussehen im Phako wie die „sekundären“ Granula. Zur Klärung der mit

diesen Befunden aufgeworfenen Probleme verfolgte Wallhäuser (583) mikrokineematographisch mit dem Zeitraffer die Entwicklung von *Bac. mycoides* von der Spore bis zur 16 Stunden alten Kolonie auf Agar mit einem Zusatz von TTC (100 Gamma/ml). Die Filmaufnahmen zeigen intrazellulär kleine Formazan-gefärbte Körnchen in lebhafter Bewegung und vielfach Gruppierung um den Zellpol. Vor der Zellteilung beobachtet man eine Wanderung der Granula zur Zellmitte. Erst nach 8 Stunden vermindert sich die Zahl der Granula, die bis dahin an der Grenze des Auflösungsvermögens liegen und erst durch die Anlagerung von TTC sichtbar werden, und ihre Größe nimmt zu. Die sehr langsame Bewegung unterscheidet sich von der Brown'schen Molekularbewegung dadurch, daß sie nach Einwirkung von Chemotherapeutika und UV-Licht gebremst bzw. aufgehoben werden kann. Dieses äußerst interessante Phänomen wird im Folgenden noch eingehend zu würdigen versucht werden. Vielleicht bestehen hier gewisse Analogien zur Wirkung einiger Chemotherapeutika auf die Aktion der kontraktilen Proteine in Flagellaten und den Geißeln von Bakterien, die bekanntlich strukturell dem kontraktilen Protein der Muskelfaser sehr ähnlich ist, etwa durch Blockierung der Kraftanlagen dieser Zellorganellen.

Jedenfalls erscheint es berechtigt, diese Granula als Redoxorte oder Reduktionszentren zu bezeichnen, da sie auch eine positive Nadi-Reaktion geben und mit Hilfe von alpha-Naphthol und Dimethyl-p-phenyldiaminchlorhydrat angezeigt wird, daß die Oxydationsorte an der gleichen Stelle lokalisiert sind wie die Reduktionszentren. Wallhäuser sieht darüber hinaus noch Zusammenhänge zwischen der Zahl der Reduktionsorte und der Sensibilität eines Bakteriums gegenüber den Antibiotika. Verschieden alte Bakterien werden durch ein und dieselbe Konzentration eines Antibiotikums verschieden stark gehemmt. Es scheint so zu sein, daß die jungen Mikroorganismen, die statistisch zahlreiche kleine Reduktionszentren aufweisen, empfindlicher sind als die älteren Organismen, die weniger, aber größere Reduktionszentren haben. Im Fortgang dieser weiteren Alterung wird die Zahl dieser Zentren wieder erhöht und die Keime werden auch wieder empfindlicher. Dieses Phänomen der Empfindlichkeitssteigerung und des Empfindlichkeitsabfalles wird auf die Vermehrung bzw. Verminderung der äußeren Oberfläche zurückgeführt. Wallhäuser (275) folgert weiter, da zahlreiche Antibiotika wie z. B. Penicillin, Patulin, Gliotoxin, Geodin, Streptomycin, Neomycin u. a. durch Oxydation und Reduktionsprozesse, insbesondere SH-Gruppen, inaktiviert werden, daß die Zelle in der Lage ist, in der Zeiteinheit eine bestimmte Antibiotikamenge in den Redoxorten umzusetzen. Diese Menge ist von der Zahl oder genauer von der Größe der aktiven Oberfläche der Redoxsysteme abhängig. Bei einem Überangebot an Antibiotikum müssen so die Redoxvorgänge in der Zelle blockiert werden und u. a. die Dehydrogenasen inaktiviert werden.

Elektive Anfärbungen von Plasmagranula mit Formazan sollen nach Ziegler (556), Hartmann (557) und Krieg (558) bei pflanzlichen Objekten nicht den Mitochondrien im engeren Sinne entsprechen.

Auch in der normalen und pathologischen Histologie sowie in der Entwicklungsphysiologie (234) wird Tetrazol zur Darstellung von Reduktionsorten im Gewebe und der quantitativen Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Mitochondrien (249) angewandt. Allerdings soll der Ort der Reduktion mit dem der Kristallbildung nicht streng identisch sein. Eine Formazanwanderung über Entfernungen, die den Zelldurchmesser weit überschreiten, wird angenommen. [Becker und Quadbeck (269), v. Hayek (266), Doerr (270)]. In der Biochemie verwendet man TTC zur Erkennung der Fähigkeit von Substanzen, als H-Überträger zu wirken (Herz 285).

Die technische Durchführung der Granula-Darstellung mit TTC bzw. NTC ist sehr einfach. Als Stammlösung benützt man eine 1%ige TTC-Lösung, die bei 1,2 kg/ml 15 Minuten sterilisierbar ist. Als nicht toxische Gebrauchslösung hat sich eine 0,005%ige TTC-Lösung bewährt. Nach Belieben kann mit Karbolfuchsin oder Fast Green (0,25%ige alkoholische Lösung) gegengefärbt werden.

2. Nadi-Reaktion (Indophenolblau-Lebend-Reaktion)

Die Reaktion (Indophenolblausynthese) ist durch oxydierende zellständige Fermente (z. B. Cytochromoxydase) bedingt. Die farblose Leukostufe wird durch O_2 -Aufnahme zu Indophenolblau. Die Annahme, daß die angefärbten Plasmapartikel auch gleichzeitig die Farbentstehungsorte, d. h. die Orte mit O_2 -Umsatz darstellen, ist nicht unwidersprochen geblieben. Da Indophenolblau ein lipophiler Farbstoff sein soll, ist es nicht ausgeschlossen, daß u. a. eine sekundäre Speicherung von in der Zelle an nicht zu definierenden Stelle gebildetem Indophenolblau in lipoiden Plasmastrukturen vorliegt (599). Die Untersuchungen von Sorokin (543) zerstreuen allerdings diese Bedenken weitgehend. Bemerkenswert ist, daß die Reaktion niemals innerhalb des Kerns sondern nur im Cytoplasma auftritt. Die Oxydasegranula sind dunkelblau gefärbt und tragen nach den Untersuchungen von Caspersson (600) und Sorokin (543) RNS. Sie müssen daher aus Eiweißen und Lipoiden aufgebaute Komplexe darstellen. Nach den biochemischen Befunden von Brachet (601) spielen diese auch als Sphärosomen bezeichneten cytoplasmatischen Granula evtl. eine Rolle bei der Eiweißsynthese.

Technisch wird die Nadi-Reaktion bei Bakterien am zweckmäßigsten nach der Vorschrift von Perner (559, 560, 561) durchgeführt. Färbung des unfixierten Präparates während 20—30 Minuten in einer wäßrigen Lösung von 2,0 ml alpha-Naphthol + 2,0 ml p-Phenylendiamin mit 6,0 ml Phosphatpuffer pH 6,8. Das Nadi-Reagens besteht nach Hawk, Oser und Summerson (562) aus einer jeweils frisch bereiteten alkoholischen 1%igen alpha-Naphthol-Lösung (in 95%igem Äthylalkohol) + einer 1%igen wäßrigen Lösung von Dimethyl-p-phenylendiamin. Mudd und Mitarbeiter (563) geben zu je 1,0 ml Kultur 5 Tropfen alpha-Naphthol-Lösung und 5 Tropfen Phenylendiamin-Lösung.

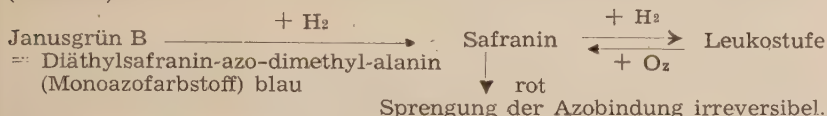
3. Vitalfärbung mit Janusgrün (Diazingrün)

Die Methode wurde erstmals durch Michaelis (548) angegeben. Nach Sorokin (543, 544) und Lazarow und Cooperstein (545) sind nur die intraplasmatischen atmungsfermenttragenden Strukturen, die bei O_2 -Mangel entfärbt werden, den echten Mitochondrien bei höheren Pflanzen zuzurechnen. Funktionstüchtige Zellen reduzieren Janusgrün sofort bei Eintritt in die Zelle und eine Reoxydation findet an den Orten mit Sauerstoffumsatz statt. Deshalb soll für eine echte Mitochondrienfärbung diese Anfärbung und bei O_2 -Mangel einsetzenden Entfärbung typisch sein. Eine positive Janusgrün-Reaktion beweist die Anwesenheit von Cytochromoxydase und ihren Äquivalenten (566, 567, 568). In diesem Zusammenhang ist interessant, daß Webster (546) zeigen konnte, daß in den Mitochondrienfraktionen von Pflanzen Peptidsynthesen ablaufen und Glutatin und Cystein unter Verwendung von ATP als Energiequelle synthetisiert werden. Nossal (547) fraktionierte bei Bakterien und Hefen Enzyme des Krebszyklus.

Sorokin (552), Bautz (549, 550, 551, 555, 599) und Drawert (553) benützten das Janusgrün B zur Darstellung von Mitochondrien und Sphärosomen in der Pflanzenzelle, insbesondere in Hefezellen. Diese Untersuchungen ergeben, daß sobald die Zelle in ihrer Lebenstätigkeit geschädigt ist, eine unspezifische Adsorption von Janusgrün B an Plasmoproteine eintritt.

Zur Vitalfärbung von Bakterienmitochondrien wurde Janusgrün von Davis, Winterscheid, Hartmann und Mudd (554) sowie von Yuasa (669) herangezogen.

Das mitochondrienfärbende Vermögen soll nach Cowdry (zit. n. Romeis) auf dem Vorhandensein von zwei $C_2 \cdot H_5$ -Gruppen beruhen. Der Reaktionsmechanismus der Färbung wird folgendermaßen beschrieben (Drawert)



In eigenen Vorversuchen an Hefen hat sich die Vitalfärbung mit Janusgrün als sehr launische Methode erwiesen; bei Bakterien liefert sie zum großen Teil durchaus verwertbare Ergebnisse. Die von Sorokin (544) empfohlene Janusgrün-Lösung in einer 10%igen Rohrzuckerlösung hat sich besonders bei der Mitochondrien-Darstellung in Bakterien nicht bewährt. Auch das Durchperlenlassen von O_2 , das von Drawert (553) angegeben wird, kann die an sich unbefriedigenden Resultate nicht verbessern.

Die besten Ergebnisse werden mit einer 0,1%igen Janusgrün-B-Lösung bei einer Färbezeit von 30 Minuten am unfixierten Präparat erzielt. Auch eine 0,01%ige Lösung ist brauchbar, ergibt jedoch wesentlich farb-schwächere Bilder. Die Lösungen brauchen, falls sie kühl, möglichst im Eis-schrank und festverschlossen aufbewahrt werden, nur alle 5—7 Tage neu angesetzt werden.

Janusgrün-B von Chroma-Schmid (vormals Grübler) zeigte sich dem Diazigrün von Merck in der Farbstärke eindeutig überlegen.

4. Reduktion von Telluriten und Seleniten

Bereits Scheurlen (533), Klett (534) und Gosio (535) beobachteten Tellurit-Anhäufungen an bestimmten Punkten des Bakterienplasmas. Eine 1%ige Lösung verhindert das Wachstum von *Micrococcus aureus*. Eine intensive Schwärzung ist bei einer Konzentration von 10 Gamma / ml zu erzielen. Praktische Verwertung findet diese Reaktion mit Kaliumtellurit in der mikrobiologischen Diagnostik bekanntlich bei der Selektivzüchtung von *Corynebacterium diphtheriae* (Clausen 536). Neuerdings hat Guthof (537) eine Selenit-Indikatorplatte zur Di*-Isolierung angegeben. Die Te*-Körnchen liegen bei *Corynebacterium diphtheriae* in Polnähe (663). Meyer und Galland (341) empfehlen zur Direktbestimmung der Streptomycinresistenz von *Mycobacterium tuberculosis* die Zugabe einer 1%igen Natriumtellurit-Lösung zum festen Nährboden am 10. Kulturtag. Nach weiteren 48 Stunden werden dann die schwarzen Mikrokolonien abgelesen und damit die Resistenzrate bestimmt. Kaffka (672) versucht auf tellurithaltigen Serum-nährmedien eine Differenzierung von *Candida albicans*. Gohar (538) stellte eine bakteriostatische und baktericide Wirkung von Kaliumtellurit auf Vibrionen fest und versuchte darauf eine chemotherapeutische Methode aufzubauen. Auch in der klinischen Diagnostik hat die Reaktion von Kaliumtellurit zu metallischem schwarzem Tellur als Schnelltest von Manzullo zum Nachweis diphterischer Membranen Eingang gefunden. Das Ausbleiben weist auf das Fehlen beträchtlicher Bakterienmengen in den Membranen hin und soll damit den Ausschluß der Diphtherie-Diagnose ermöglichen (539, 540, 541).

Wachstein (542) fand bei einem Vergleich der Kaliumtellurit-Reduktion mit der Neotetrazoliumchlorid-Methode die intracytoplasmatischen Grana in ähnlicher Form und Verteilung. Es konnte nachgewiesen werden,

*) Di = Diphtherie Te = Tellurit

daß die Ablagerungsstellen des hydro- und lipophilen Tellurs und des hydrophoben und lipophilen NF-Formazans identisch, d. h. Orte der primären Reduktion sind. Die Granula bei der Verwendung von NTC waren größer und gröber, ein verwertbarer Befund lag bereits nach 30—60 Minuten vor. Die Kaliumtellurit-Reaktion benötigte demgegenüber mehrere Stunden.

5. Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis der Speicherung von Berberin in Chondriosomenäquivalenten von Bakterien

Ausgehend von den Untersuchungen von Schmitz (575), der im Berberin eine Substanz fand, die eine starke selektive Giftwirkung auf die Atmung der Ascites-Tumorzelle ausübt und dieser Inhibitor in den Grana der Zellen gespeichert wird und in ihnen fluoreszenzoptisch nachweisbar ist, konnte Krieg (576) mit ähnlicher Versuchsanordnung unter Verwendung von Berberinsulfat in einer Verdünnung von 1:1000 bei *Saccharomyces cerevisiae* und *E. coli* eine selektive Speicherung an den subpolaren Bezirken der Zellen, an denen auch mit TTC und NTC der Nachweis von Reduktionsorten gelingt, fluoreszenzoptisch feststellen. Im Gegensatz zu Acridinorange, mit dem Krieg die Kernäquivalente in Form von charakteristischen Spiralstrukturen darstellt, wird mit Berberinsulfat in lebenden ungeschädigten Zellen kein Kernäquivalent angefärbt.

6. Darstellung der Mitochondrien bzw. Mitochondrienäquivalente mit Toluidinblau nach Vorbehandlung mit Formol-Sublimat

Love und Mitarbeiter (598) haben eine einfache Färbung zur Darstellung von Mitochondrien in Tumorzell-Ausstrichpräparaten beschrieben. Es lag nun nahe, diese Methode auch zur Darstellung von Bakterienmitochondrien heranzuziehen.

Der noch feuchte Ausstrich wird in 10%iger Formalin-Lösung, frisch gesättigt mit HgCl_2 10 Minuten bei 37 Grad C fixiert und dann mindestens 10 Minuten in Leitungswasser gewaschen. In Abänderung der Originalvorschrift von Love, der nun in 0,01%iger Toluidinblau-Lösung in Mc Ilvaine-Puffer pH 6,0 färbt, hat sich uns bei Bakterien eine Färbung mit 0,1%igem Toluidinblau in Phosphatpuffer pH 6,0 als kontraststärker erwiesen. Nach Spülung in Aqua dest. (1 Minute) wird das Präparat für 5 Minuten in eine jeweils frische Lösung aus gleichen Teilen einer 5%igen wäßrigen Lösung von Kaliumferrocyanid überführt. Nach Spülung mit Aqua dest. (1 Minute) kann mit Carmalum gegengefärbt werden. Nach Love sind die Mitochondrien tiefblau, das Cytoplasma blaßblau und das Chromatin bloßpurpur gefärbt.

Den Reaktionsmechanismus stellt man sich nach Love und Pearse (zit. n. Love) folgendermaßen vor: Das Hg verbindet sich mit den Carboxyl- und Hydroxylgruppen der Proteine und mit der Phosphonukleinsäure. Es bildet sich zunächst eine Kombination von Hg mit der RNS, die dann mit Toluidinblau dargestellt wird, und eine Kombination von Hg mit den Lipiden der Mitochondrien. Die folgende Behandlung mit der Ammoniummolybdat-Kaliumferrocyanid-Lösung führt zur Präzipitation des Hg-RNS-Farbstoffkomplexes auf den Hg-Lipiden der Mitochondrien.

Bei Bakterien angewandt gestattet die von uns modifizierte Formol-Sublimat-Toluidinblau-Methode nach Love aufschlußreiche Einblicke in den cytologischen Aufbau der Bakterienzelle.

Bei Mikrokokken sieht man einen dunklen- bis hellpurpurnen Ring als Außenzone mit besonderer Farbvertiefung um eine ungefärbte wie ausgestanzte runde Zentralzone. (Ringbildungsphänomen um ein toluidinblau-negatives Zentrum). Bei Gegenfärbung mit der Farblösung 6120/12 von Ciba ergibt sich ein unverändertes Ringbild. Bei Gegenfärbung mit einer 0,15%igen wäßrigen Methylgrünlösung und einer Farbexpositions-

zeit von 15 Minuten dagegen ist das Ringbildungsphänomen nicht mehr nachweisbar. Das Zentrum ist tiefdunkelblaugrün, also methylgrünpositiv dargestellt. Eine weitergehende Differenzierung zwischen blauvioletter Außenzone und dunkelblaugrüner Innenzone ist kaum möglich.

Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß die Mitochondrien oder Mitochondrienäquivalente bei *Micrococcus aureus haemolyticus* im Bakterienplasma ringförmig um den zentralen Kern herum angeordnet sind.

Bei *Bac. cereus* (junge Vegetativformen) ergibt sich bei sehr guter Darstellung ein uniformes Bild. Intrazellulär lassen sich irregulär liegende blauviolette Farbstoffablagerungen nachweisen. Dazwischen liegen vielfach multiple kleinere oder größere ungefärbte runde Negativbezirke, die wohl als Bakterienkerne anzusprechen sind.

Bei *B. coli* und *Proteus vulgaris*, zur Untersuchung kamen 4- und 24-stündige Kulturen, liegen die Farbstoffablagerungen vorwiegend polar, subpolar oder auch diffus irregulär bei wolkiger Trübung im übrigen Bakterienleib. Ein Ringbildungsphänomen ist bei *B. coli* und *Proteus vulgaris* nicht beobachtet worden. Auch die Gegenfärbung mit Methylgrün läßt eine synoptische Darstellung von Kern und Mitochondrien nicht zu, evtl. handelt es sich hierbei um eine pseudoisotope Lokalisation beider Zellstrukturen.

Wie aus den vorausgehenden Abhandlungen über Färbeverfahren hervorgeht, sind zur spezifischen Darstellung verschiedener Zellbestandteile bestimmte Farbreaktionen notwendig, die darüberhinaus über die physiologischen Abläufe in der Bakterienzelle Auskunft geben.

Am Ablauf der natürlichen Alterungsvorgänge soll die Aussagemöglichkeit über die Lebensvorgänge im Bakterium durch färberische Darstellung beispielhaft veranschaulicht werden.

Alterungsvorgänge und Absterbeerscheinungen der Bakterienzelle

Beim Einzeller beobachten wir wie beim vielzelligen Organismus eine Alterung der einzelnen Zelle. Hartmann (680) gelang es z. B., durch wochenlange Unterdrückung der Teilung bei dem Geißeltierchen *Janium pectorale* Riesenindividuen zu züchten. Dieses künstlich verlängerte Leben des Einzelindividuums führt bei Ausbleiben der Teilung aber schließlich zum Tode. Die Alterungsprozesse setzen dann ein, wenn es zu einer irreversiblen Anhäufung von Stoffwechselprodukten im Zellgefüge kommt und damit der normale Ablauf des intermediären Stoffwechsels gestört wird. Wie eigene Untersuchungen gezeigt haben, sind auch bei Bakterien gesetzmäßig ablaufende Alterungserscheinungen nachweisbar.

Die Versuche wurden am Teststamm *Micrococcus pyogenes* var. *aureus haemolyticus* ATCC durchgeführt.

Versuchsansatz: Eine 18—24stündige Schrägagarkultur wird mit 75 ml Brain heart infusion broth-Difco abgeschwemmt, eine Stunde bei 37 Grad C vorbebrütet, mit Brain heart infusion broth-Difco verdünnt und dann zu je 10 ml in Röhrchen abgefüllt. Die Verdünnung der Impflösung berechnet sich nach folgendem Schema:

$$\frac{\text{Zahl der Kulturröhrchen mal } 8 \text{ mal } 40}{1000} = \times$$

Ein einfaches Beispiel mag dies veranschaulichen. Benötigt werden 120 Röhrchen zu je 8,0 ml Bouillon = 960 ml $\approx$ 1000 ml Bouillon. Die Zahl 40 ist ein feststehender Zahlenfaktor der Impflösung auf ein Liter berechnet. Damit ergibt sich folgender Ansatz

$$\frac{1000 \text{ mal } 40}{1000} = 40 \text{ ml}$$

d. h. 40 ml Impflösung werden zum Beimpfen der erforderlichen 1000 ml Bouillon benötigt.

Der ganze Versuchsansatz wird ins Wasserbad überführt und bei 37 Grad C bebrütet. Die Beobachtungen wurden nach 360 Stunden = 15 Tagen abgeschlossen. Während der ersten 255 Minuten wurden alle 15 Minuten Proben zur mikroskopischen Untersuchung entnommen, später alle Stunden bzw. zweistündlich, von der 100. Stunde an in größeren Intervallen gewöhnlich 2—3 mal täglich. Gefärbt wurde nach Gram zur Plasmadarstellung, mit Janusgrün zur Mitochondriendarstellung und mit Perchlorsäure-Fuchsin zur Kerndarstellung.

Vor Versuchsbeginn sind im nach Gram gefärbten Präparat außer einzelnen wenigen Kokken in Normalgröße, die unmittelbar dem Einsaatmaterial entstammen, feinste hellila Pünktchen und einzelne dunkelblaue Granula zu sehen. Im fixierten Janusgrün-Präparat sieht man feine staubartige Körnchen. Mit der Perchlorsäure-Fuchsin-Methode nach Cassel sind keine Kerne nachweisbar. Nach 45 Minuten sieht man im Janusgrün (JG)-Präparat kleine hellgrüne, im Gram-Präparat hellila kugelförmige Gebilde in etwa einem Drittel der normalen Kokkengröße. Nach 75 Minuten imponieren nach JG viele kleine, mehrere normalgroße schwach grün gefärbte Kokken bei deutlicher Anisocytose. Die weiteren Versuchsergebnisse sollen, soweit sie für die Gesamtbeurteilung wesentlich erscheinen, tabellarisch in Stichworten dargestellt werden.

90 Minuten	Gram: lilarose Kleinkokken, vereinzelt stark blau gefärbte Einzelkokken
	JG Anisocytose und Polychromasie
	PF —
120 Minuten	Gram: große und kleine rote (gramnegative) Kokken mit blauwolkigem bzw. blaugepünkeltem Plasma
	JG vielfach deutliche Traubenbildung in starker Ausfärbung. Einzel- und Diploformen hellgrün
	PF +
150 Minuten	Gram: viele gramnegative Formen dazwischen in der selben Traube grampositive Formen. Anisocytose
	JG Großform und Normalform
	PF +
	Die Bouillon ist makroskopisch sichtbar getrübt
165 Minuten	Gram: überwiegend gramnegative Formen und große dunkellila Kokkenformen mit dunkelblauem Zentrum
195 Minuten	Gram: dunkelviolette, vereinzelt rote Trauben, einzelne blaue polymorphe Kokken in Einzellagerung
17 Stunden	Gram: dunkelviolette bis rotviolette unvollständige Trauben, z. T. Lyse und Schrumpfungerscheinungen, nur ganz vereinzelt große blaue Formen in Einzellagerung
	JG Anisocytose, Polychromasie, keine Großformen
18 Stunden	Gram: rote Kokken mit dunklem bzw. wolkigen Zentrum
20 Stunden	Gram: dunkelviolette Trauben, Aniso- und Poikilocytose
24 Stunden	z. T. rote Kokkenschatten, Normalform, Lyse, Detritus, vereinzelt rote Kokkengruppen, einzelne Großformen im Kokkenverband
	JG normale Trauben
	PF +
28 Stunden	Gram und JG: einzelne Großformen
48 Stunden	Gram: blaßroter Detritus
	JG Großform, Normalform, z. T. starke Polychromasie und Anisocytose, im allgemeinen nur Verbände bis 4 Kokken, keine Trauben
	PF +

52 Stunden	Gram: einzelne blaßlila Kokkenschatten, dunkelblaue feinste Pünktchen, Lyse, vereinzelt Semmelformen
	JG Kokkenschatten und Kokkentrümmern irregulär geformt, keine Traubenanlagerung, allgemeine Lysserscheinungen, Farbverluste besonders bei den Großformen, viele Kokken sind nurmehr hellgrün bis blaßgrün gefärbt
	PF +
65 Stunden	Gram: Vereinzelt blaßrosa strukturlose Großformen, blaßlila Kokkenschatten, Lyse, Detritus, intra- und extrazelluläre kleinste tiefblaue Körnchen
	JG schwach grünlich gefärbte Kokkenschatten und Kokkentrümmern, einige wenige stark ausgefärbte große Formen, Pünktchendetritus, starke Anisocytose, Irregulärformen
72 Stunden	Gram: Gramnegativer Detritus, einzelne grampositive Einzel- und Diplokokken sowie Großformen
	PF + (einzelne)
96 Stunden	JG viel Detritus, selten Großformen
	PF + Polymorphie, Ring- und Körnchenform, Aniskaryose, Karyorhexis
123 Stunden	PF + Karyofragmentation, intrazellulär irreguläres Kleinkorn
165 Stunden	Gram: Detritus, ganz vereinzelt grampositive polymorphe Einzel- und Diplokokken
	JG einzelne schwach gefärbte Großformen, im allgemeinen Detritus
	PF — Karyolyse
237 Stunden	Gram: Gramnegativer Kokkendetritus
	JG einzelne Kokkenschatten, Detritus
	PF —
288 Stunden	Gram: Gramnegativer Kokkendetritus
	JG Detritus, einige Großformen mit intrazellulärem körnigem Zerfall, Polymorphie und Polychromasie
	PF —
360 Stunden	Gram: Gramnegativer Kokkendetritus
	JG Detritus, ganz vereinzelt Großformen
	PF —

Bei Subkultivierung aus der 360stündigen Kultur wächst der Stamm normal, wenn auch verzögert nach 15—18 Stunden an. Die Morphologie entspricht der Norm. Verwendet man statt einer frischen Bouillon die seitfiltrierte 15 Tage inkubierte vorher bewachsene Bouillon, so kann selbst nach 48stündiger Bebrütung kein Wachstum ausgelöst werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß bei Mikrokokken Alterungs- und Absterbeerscheinungen morphologisch erkennbar sind. Ohne Subkultivierung ergibt sich ein sich selbst erschöpfender Teilungszyklus. Obwohl eine fortlaufende Beobachtung eines Einzelindividuums, etwa im Phasenkontrastverfahren, vom Zeitpunkt der Auskeimung bis zum Zelltod technisch nicht möglich war, da kein Mikromanipulator zur Verfügung stand und die Einzellisolierungsmethode nach Lederberg (530) nicht erstrebenswert erschien, da sie wohl für Mikroorganismen der Bazillus-Gruppe verwendbar ist, zunächst aber nicht für andere kleinere Bakterien (531) — eine vielfach wiederholte färberische Darstellung eines Einzelindividuums, etwa im Abklatschverfahren wäre ohnedies bei Einzellisolierung methodisch äußerst schwierig — gelang es doch auch ohne Einzellisolierung — durch Reihenversuche in einer größeren Mikrokokken-Population die einzelnen Wachstumsphasen morphologisch zu charakterisieren.

1. In der Verjüngungs-, Reifungs- oder Anlaufphase (bis zu ca. 90 Minuten), die ganz im Zeichen des Wachstums der Größenzunahme und eines intensiven Stoffwechsels steht, findet die anlaufende RNS- und DNS-Synthese morphologisch und färbereichs darin ihren Ausdruck, daß sich der Einzelkokkus vom staubähnlichen nach Gram rot-hellila und Janusgrün (JG) graugrün gefärbten Pünktchen, in dem zunächst mit der Perchlorsäure-fuchsin-(PF)-Methode nach Cassel kein Nukleus nachweisbar ist, über ein Stadium der deutlichen Polychromasie und Anisocytose in der Population zu einem zunächst roten bzw. hellgrünen Einzelkokkus entwickelt, der sich dann in

2., der logarithmischen Phase (ab 150 Minuten bis zu ca. 4 Stunden) maximal und regelmäßig durch Teilung vermehrt, wobei sich die Teilungsformen in Traubenform anlagern. Als Ausdruck gesteigerter Syntheseleistung ist u. a. die am Auftreten der Gram-Reaktion erkennbare vom Zentrum zur Peripherie fortschreitende Einlagerung des Ribonukleatkomplexes zu werten. Der Kern ist sichtbar und dient wahrscheinlich (919, 591) als Protein-Synthese-Steuerungszentrum. Im unfixierten mit Janusgrün gefärbten Ausstrichpräparat imponieren, als Ausdruck einer intensiven Stoffwechseltätigkeit im Mitochondrienbereich, große maximal dunkelgrün ausgefärbte Kokken. Auf dem Höhepunkt der logarithmischen Phase erscheint die Bouillon makroskopisch gleichmäßig getrübt.

3. Nach einer stationären Phase, die bis zu 17 Stunden nach Versuchsbeginn dauern kann, bei ungünstigen Umweltbedingungen jedoch schon wesentlich früher zum Abschluß kommt und morphologisch durch die Nachweismöglichkeit sämtlicher Zellstrukturelemente und normale grampositive tiefblaue Ausfärbung gekennzeichnet ist, wird in fließenden Übergängen die

4., Verfallphase eingeleitet. Diese steht im wesentlichen im Zeichen eines absoluten Teilungsstops und einer Erschöpfung der Synthesemöglichkeiten der Einzelzelle. Morphologisch finden diese intrazellulären Vorgänge ihren Ausdruck wiederum in Anisocytose und Poikilocytose, Lysis und Schrumpfungerscheinungen, vermehrtem Auftreten gramnegativer roter und hellvioletter Formen und Zelldetritus. Auftretende Großformen dürften als labile Anpassungsformen an die veränderte ungünstige Stoffwechsellage zu werten sein. Zunächst bleibt der Kern nachweisbar, im letzten Absterbestadium tritt auch im Kernbereich Polymorphie, Ring- und Körnchenformen, Anisokaryose und Karyorhexis, schließlich Karyolyse auf. Damit ist wahrscheinlich gemacht, daß auch an Bakterienzellkernen nekrobiotische Prozesse, die ausgehend von einer Kernwandhyperchromasie über eine Karyopyknose und eine Karyorhexis, schließlich zur Karyolyse führen, ablaufen. Das Janusgrün-Bild ergibt parallel mit dem Rückgang der Stoffwechselintensität eine Abnahme der Färbbarkeit vom normal gleichmäßig dunkelgrün ausgefärbten Kokkus zum schwach graugrünlchen Kokkenschatten und Detritus. Auch hier beobachtet man Polychromasie und Anisocytose. Dieser gesetzmäßige stufenförmige Ablauf ist mit dem definitiven Zelluntergang beschlossen.

Die Untersuchungen an der alternden Bakterienzelle leiten zwanglos zu Untersuchungen, die sich mit der Wirkung zellfremder und stoffwechsel-fremder Substanzen, wie z. B. die Chemotherapeutika und Antibiotika auf die Morphologie und Biochemie der mikroorganismischen Zellen befassen, über.

Bei den Mikroorganismen stehen ähnlich wie bei den Makroorganismen Form und Funktion in engster wechselseitiger Beziehung. Bei einer Abwandlung der Gestalt ist man berechtigt, auf eine Abwandlung der Leistung zu schließen.

Die Variabilität der Bakterien in Morphologie und Physiologie unter dem Einfluß äußerer Bedingungen ist bereits Robert Koch (259) eine Selbstverständlichkeit.

Reaktionsfähigkeit und Anpassungsfähigkeit an verschiedenen Umweltbedingungen, eine Reizbeantwortung als charakteristische Eigenschaft des Lebens, finden wir in hohem Maße auch bei Mikroorganismen. Diese Reizbeantwortung kann sich nach Jakobj (681) zellmorphologisch oder betriebsphysiologisch in einer Umgestaltung der feineren Zellstrukturen oder in einer Änderung des Zellwachstums und der Zellteilungshäufigkeit äußern. Diese Möglichkeiten einer Reizbeantwortung besitzt nun die Bakterienzelle in gleichem Maße wie die makroorganismische Zelle, die von Jakobj angesprochen wurde. Das Leistungswachstum wird allgemein als Ausdruck einer spezifischen Reizbeantwortung angesehen, so wird das Auftreten von Riesenzellen unter den verschiedensten physiologischen und pathologischen Bedingungen als Ausdruck eines Leistungswachstums bei hochgradig gesteigerter spezifischer Zellfunktion gewertet. Von dieser Wachstumsart ist das Störungswachstum abzutrennen, von dem man dann spricht, wenn der Durchteilungsmechanismus des Zelleibes, der äußeren Noxen gegenüber wesentlich empfindlicher ist als die Wachstumsfähigkeit des Zellplasmas oder die Teilbarkeit des Zellkerns, außer Funktion gesetzt ist.

Biochemische Studien
zur Aufklärung der Wirkungsweise der chemotherapeutisch
und antibiotisch wirksamen Substanzgruppen

Überblick über die Literatur.

Zum Verständnis der weiteren Erörterungen ist es unerlässlich, in einer kurzen Übersicht nach Wirkstoffen und Wirkstoffgruppen getrennt darzustellen, wie man sich heute die Wirkungsweise dieser Stoffe zu erklären versucht.

Angabe der Verfasser und Literaturhinweise sollen das Auffinden der einzelnen Publikationen erleichtern.

Chemotherapeutikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
Sulfonamide		Eingriff in den Kohlenhydrat-Abbau durch Blockierung SH-haltiger Fermente Verhinderung des Einbaues der PAB zur Synthese der Folsäure Sulfonamide inaktivieren SH- oder andere Gruppen tragende Enzymsysteme, die für das Erreichen eines stark negativen Redoxpotentials verantwortlich sind Blockade von Redoxsystemen — Angriff am aeroben Fermentapparat (ähnlich der Hg-Wirkung). Unterbrechung des aeroben Wachstums durch wesentlich kleinere Dosen als für den Stop des anaeroben Wachstums Die Sulfonamide Protocid und Supronal wirken bei dreifacher menschlicher therapeutischer Dosis über die Dauer der Rattenschwangerschaft dem Muttertier injiziert, wachstumshemmend auf den Rattenfetten	Ludwig L. (1953) Tscheche R. (1951) Warren J.-Street J. A.-Stockinger H. (1939) Pratt R.-Dufrenoy J. (1949) Grumbach A. (1948) Föllmer W.-Bockenhaimer J. (1952)	3 224 256 257 252 673

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
Penicillin		Bakteriostase ist durch Cystein nicht zu beeinflussen	Bailey J. H.-Cavalito C. J. (1948)	242
		Zugabe von SH-Gruppen steigern die Empfindlichkeit des Mikroorganismus gegenüber Penicillin	Pratt R.-Dufrenoy J. (1948)	240
Penicillin + Streptomycin additive Wirkung (477) Penicillin + Terramycin relativer Antagonismus (477)		Subbakteriostatische Konzentrationen von Penicillin lassen das Redoxpotential der Bakterien anwachsen - Hemmung der Sauerstoff-Aufnahme und Kohlendioxyd-Abgabe		
		Hemmung des Brenztraubensäure- $\rightarrow$ Hydrogen-Lyase-Systems (irreversibel, durch Biotin nicht aufzuheben)	Osteux R.-Laturaze J. (1952)	231
		Hemmung der mit Glutathion verknüpften Transpeptidierung	Hanes C. S.-Hird	
		Nach R. Lipmann wird zur Bildung einer Peptidbindung energiereiches Phosphat verbraucht	F. J. R.-Isherwood F. A. (1950)	660
	Micrococcus Streptococcus viridans Bac. subtilis Micrococcus aureus	Komplexbildung mit Nukleinsäuren, dadurch Blockierung des Nukleinsäurestoffwechsels	Pandalei K. M.-Georde M. (1947)	60
		Hemmung der Aufnahme von P 32. Gesteigerte Abgabe von P als Folge intrazellulärer Abbauvorgänge oder erhöhter Zellpermeabilität	Thomsen G.-Carlson S. (1953)	30
		Hemmung der Glutaminaktivierung der Glutathionhydrolyse	Binkley F.-Olson C. K. (1951)	163
		Ohne Einfluß auf die Dehydrierung von Glukose. Bernsteinsäure, Phenylalanin und Tryptophan (keine Hemmung der Dehydrasen)	Schmitz H. (1950)	143

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Penicillin	Micrococcus aureus	Blockierung des Dissimilationssystems der Nukleotide. Sekundär erst Störung der Glutaminsäureaufnahme, Hemmung d. RNS-ase	Krampitz L. O.- Werkman C. H. (1947) 141 Mitchell P. (1949) 140
		Hemmung der Ribonuklease	Mossart L.-Peters G.-Van Houke A. (1947) 136
		Adaptive Fermentbildung wird nicht beeinträchtigt	Hahn F.-Wisemann C. L. (1951) 116
		Hemmung der Veratmung von Ribonukleotiden und -siden	Gros F.-Beljanski M.-Macheboeuf M. (1950) 96
	E. coli	Blockierung der Proteinsynthese bei normalem Sauerstoff, Phosphat und Aminosäuren,-Verbrauch	Horchkiss R. D. (1950) 94
		Blockierung der Proteinsynthese durch Penicillin-Bruchstück Thioprolin	Beerstecher E. (1950) 81
		Aufhebung des Blocks durch Prolin	
		Bildung von Penicillin-Eiweiß-Komplexen. Albumin-Penicillin behält seine Wirkung	Klotz J. M.-Urquhart J.-Weber W. W. (1950) 73
		Hemmung der Succinodehydrase	Cedrangulo F.-Fidanza A. (1951) 61
		Wirkung auf die Spaltung Ribose-Purinbase oder auf Stoffwechsel des Ribosephosphat gerichtet. Keine Beeinflussung der Phosphomonosterasen d. Nukleotide	Gros F.-Macheboeuf M. (1949) 181 Gros F.-Macheboeuf M. (1952) 205
		Verhinderung der Entstehung eines Nukleinsäure-Protein-Komplexes bei der Proteinsynthese	Gale E. F. (1952) 200

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Penicillin	<i>Micrococcus aureus</i>	Übertragung der Penicillin-Resistenz durch DNS resistenter Stämme auf nicht resistente Anreicherung von drei verschiedenen Uridin-5-pyrophosphat-Aminozuckerderivaten (Abbaustop bei diesem Stoffwechselschritt?) Anreicherung von Mononukleotiden im Hemmbereich durch Hemmung der Dehydrasen und Phosphatasen Bei unterschwelliger Konzentration: Stimulierung der Dehydrasen und Phosphatasen Hemmung des Ribonukleotidabbaues ohne Beeinflussung der Phosphomonoesterase Hemmung der RNS-Synthese, Hemmung des XP (Phosphatester). Anreicherung von freien Nukleotiden und Nukleosiden. Erschöpfung von freien Purinen	Hotchkiss R. D. (1952) 98, 203 Park (1952) 202 Dufrenoy u. Pratt (1952) 190, 201
	<i>Micrococcus aureus</i>		Latlerade C.-Macheboeuf M. (1951) 197 Mitchell B.-Moyle J. (1951) 482
	<i>Cl. sporogenes</i>	Die proteolytische Aktivität ist durch P. nicht beeinflussbar. Die Stimulierung der Peptidase ist unmittelbar bedingt durch eine Komplexbildung von Penicillin oder Streptomycin mit Cystein unter Freisetzung von SH. Fe+Komplex ist aktiver als Fe+Cystein	Gros F.-Macheboeuf M.-Lacaille P. (1948) 178
		Wirkung auf RNS	Preuner R. (1951) 230 Gros F.-Macheboeuf M. 332
	Leukocyten	Hemmung der Dephosphorylation der Aldehydpyrophosphorsäure und damit Hemmung der Dephosphorylierung der Nukleotide Penicillin in vitro, wie auch systematische Behandlung mit Penicillin und Streptomycin führen eine Abnahme der Phagocytoseaktivität der	Mosonyi L.-Szöke A.-Vaida J. (1952) 433

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Penicillin		WBK herbei. Vorteilhafte Beeinflussung durch Hinzugabe versch. wasserlöslicher Vitamine (Angriff auf den Fermentapparat der Zelle?)	Spiegelmann S. (1947) 102
		Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Jackson A. W. 102
		Versuche mit markiertem Penicillin. Aus der Tatsache, daß Extrakte aus P.-empfindlichen Bakterienzellen mehr Penicillin binden als unempfindliche, ist zu schließen, daß die Empfindlichkeit gegen P. auf einer Reaktion mit gewissen Zellbestandteilen beruht, wobei wahrscheinlich Proteine mit Enzymnatur eine Rolle spielen. Tierische Zellen binden im Vergleich hiermit sehr viel weniger Penicillin, woraus die geringe Toxizität des Antibiotikums verständlich wird	Eagle (1953) 12
		Nachweis der P.-Bindung mit UV	Hauser E. A.-Phillips R. G.-Phillips J. W.-Vavrucl J. (1949) 137
		Nachweis der P.-Bindung mit P 32	Maass E. A.-Johnson M. J. (1949) 138
			Rowley D.-Cooper P. D.-Roberts P. W.-Smith E. L. (1950) 163
		Kobalt als Synergist des P. bei der Reaktion mit SH-Gruppen	Pratt R.-Strail L. A. (1948) 134
	Paramaecium caudatum	Penicillin bewirkt eine deutliche Steigerung der Teilungsfrequenz	Kaunat H. (1954)

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Penicillin		(Teilungsfördernde Wirkung stoffwechselfremder Substanzen in geringen Konzentrationen-Arndt-Schulz'sche Regel — 400—1250 IE/ml) Penicillin geht mit einem spezifischen Rezeptor in empfindlichen Bakterien stabile Verbindungen ein. Die unmittelbaren Folgen davon sind Störungen sowohl im Nukleinsäure- wie auch im Proteinstoffwechsel und es scheint heute, daß die für das Penicillin empfindliche Stelle dort liegt, wo Nukleinsäuresynthese und Proteinsynthese ineinandergreifen. Ähnlich wirkt Bacitracin	Ettlinger L. (1955) 676
Streptomycin	E. coli Micrococcus aureus pyogen. M. smegmea, M. avium M.' tbc. var. human. Ps. pyocyanea	Hemmung von aromatischen Synthesen (Indolsynthese) nur in großen Dosen! (Beteiligung nur bei adaptiven Prozessen) Hemmung der Diaminoxidase	Gibson F. (1955) 659 Zeller E. A.-Owen C. A.-Power M. H.-Karlsdon A. G. (1949) 111 Owen G. A.-Karlsdon A. G.-Zeller E. A. 112, 165 Zeller E. A.-Owen G. A. 247 Roulet F.-Zeller E. A. 245 Fitzgerald R. J.-Bernheim F. (1948) 27 Imbriano A. E. (1950) 161
	M. lacticola Tetanus-Toxin	Unterdrückung der Enzymbildung zur Oxydation von Benzoesäure Keine Beeinflussung des Tetanus-Toxins	

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Streptomycin		Nukleinsäuren, Heparin und Hyaluronsäure haben Antistreptomycin-Wirkung	Cacciavillani B.-Grassi C. (1950) 156
		Hemmung der anaeroben Oxydation von Glycerin?	Henry J.-Henry R. J.-Berkman S.-Housewright R. D. (1947) 151
		SH - Antagonismus (Wirkungshemmung des Streptomycin durch Cystein und andere reduzierende Stoffe)	Geiger W. B.-Green S. R.-Waksman S. A. (1946) 148
			Bondi A.-Dietz C. C.-Suaufding E. H. (1946) 149
E. coli		Hemmung der Brenztraubensäure - Oxalessigsäure Kondensation	Dolah R. W. (1947) 150
			Umbreit W. W. (1949-1952) 76, 122, 123, 144 196, 204, 441, 446, 476
			Barkulis J. L. (1951) 124
Shigella sonnei Bac. cereus		Hemmung der Kohlenhydrat-Verwertung und des Sauerstoff-Verbrauchs	Henry J.-Henry R. J.-Housewright R. D.-Berkman S. (1950) 142
		Nach Bakteriostase: Verminderung des Gesamt-N und Phosphors. Menge der reduzierenden Substanz nimmt zu	
S. typhi		Hemmung der Ribonuklease (bzw. Angriff an der RNS)	Massart L.-Peters G.-Van Houke A. (1947) 136
		Steigerung der Sauerstoff-Aufnahme	
		Interferenz mit bestimmten Zellsystemen, so daß normale Synthesen nicht mehr ablaufen können	Berham R. S. (1947)
Kreuzresistenz: Neomycin (obligat) 192			

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Streptomycin		Ohne Wirkung auf Glutaminsäure - Dehydrogenase	Quagliariello E.-Fidanza A. 113
		Streptomycin agglutiniert eine ganze Reihe von sensiblen und resistenten Bakterienstämmen	Linz R.-Lecocq E. 118
		Bakteriostase durch Cystein nicht beeinflußbar	Bailey J. H.-Cavalito C. H. 242
	E. coli	Unterdrückung gewisser enzymatischer Atmungssysteme	Wight K.-Burk D. (1951) 110
	Micrococcus aureus	Hemmung der Assimilation zellulär gebildeter Glutaminsäure (nur in hohen Konz.)	Gale E. F.-Paine T. F. (1950-51) 109
	Micrococcus aureus	Hemmung der Bernsteinsäure-Oxydation	Sakokibara E. (1951) 113
		Fällung gewisser Nukleoproteide - Abhängigkeit vom Verhältnis DNS : RNS	Duzulynska J.-Mikulaszek E. (1950-51) 108
	M. smegmae	Hemmung der Bildung der Fermente zur Oxydation von Benzoesäure und Brenzkatechin	Wagner W. H. (1950) 101
	E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Fitzgerald R. J.-Bernheim F.-Fitzgerald D. B. (1948) 100
	Ps. aeruginosa	Hemmung der Oxydation und im geringeren Grade der Desaminierung von Phenylalanin Tyrosin, Phenylserin	Bernheim F.-Deturk W. E. (1952) 87
		Hemmung der Oxydation von Succinat und anderen Dikarbonsäuren	
		Hemmung der Synthese von Pantothersäure durch Verhütung der Kupplung von beta-Alanin und Pantoyllakton zu Pantothenat	Lichstein H. C.-Gilfillan R. F. (1951) 82

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Streptomycin	Mycobacterium tuberculosis	Bindung von Streptomycin an den Polysaccharid-Mykolsäure-Komplex	Rybak B.-Gros F. 78 Grumbach F. (1949)
		Salzbildung mit RNS und Kephalin an der Zellgrenze (Wirkung als Permeabilitätsgift) — Beeinflussung der RNS-Depolymerase Streptomycin kann durch Cystein (12 Std. 37 Grad C pH 7,8) inaktiviert werden	Linz R. (1949) 77
		Streptomycin fällt Ribonukleotide in 0,1%iger Lösung bei pH 7,5 ab 1mg/ml aus	v. Euler H.-Heller L. (1950) 72
		Streptomycin verdrängt Toluidinblau vom Nukleotid bei pH 4,6 sehr viel weniger als bei pH 7,0 (Komplexbildung mit RNS)	Marco A. di-Borretti G. (1950) 70
H. influenzae	Keimende Samen grüner Pflanzen	Störung der Bildung des Chlorophylls und seiner Vorstufen	v. Euler H. (1953) 283
		Streptomycin fällt Nukleinsäuren und Nukleoproteide	Cohen S. S. (1946-47) 284
Micrococcus aureus	Mycobacterium tuberculosis	Übertragung der Streptomycinresistenz durch DNS resistenter Stämme auf nicht resistente Aufhebung der Wirkung durch DNS-ase	Alexander H. E.-Leidy G. (1953) 193
		Erwerb neuer Merkmale, die erblich sein können, ist damit als bewiesen zu betrachten (Hotchkiss)	
Mycobacterium tuberculosis	Mycobacterium tuberculosis	Hemmung des Ribonukleotid-Abbaues ohne Beeinflussung der Phosphomonoesterase	Latterade C.-Macheboeuf M. (1951) 197
		Einige Fraktionen (Nukleoprotein, Phosphat) werden durch Str. präzipitiert Wirkung auf DNS	Kurylowicz W.-Mikulaszek E.-Rzucidlo L. (1950) 175 Preuner R. (1951) Nakajima zit. n. 79

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
Streptomycin	E. coli	Hemmung der Brenztraubensäure-Oxallessigsäure-Kondensation	Slater E. C. (1949)	139
	E. coli	Hemmung von 2-Phospho-4-oxy-4-carboxy-adipin-säure, das als neues Stoffwechselprodukt erkannt wurde (Einbau von P 32). In E. coli wird es durch Zusatz von Oxalacetat, Fumarat und Pyruvat gebildet. Bildung wird deutlich durch Streptomycin gehemmt	Umbreit W. W. (1953)	430
Zellhomogenate		Citratbildung von Brenztraubensäure und Oxallessigsäure wurde durch Streptomycin bei einem Str.-sensiblen Stamm nicht gehemmt, ebenso die Oxydation der Mischung dieser Substrate. Ein resistenter Stamm obwohl unfähig zur Oxydation von Brenztraubensäure und Oxallessigsäure produzierte meßbare Mengen von Citrat. Die Acetat-Oxalacetat-Kondensation kann demnach nicht der einzige Weg sein Brenztraubensäure in das terminale Respirationssystem einzuschleusen. Es wird eine Brenztraubensäure-Oxallessigsäure-Reaktion, die nicht Citrat bildet und die dann durch Streptomycin hemmbar ist postuliert	Umbreit W. W., Smith P. H., Oginsky E. L. (1951)	442
		Hemmung der Brenztraubensäure-Oxallessigsäure-Kondensation bei E. coli 30—60 Gamma/ml, Körperzellen erst ab 300 Gamma/ml Permeabilitätsbarriere an der Zellwand und an der Mitochondrienwand	Umbreit W. W., Tonhazy N. E. (1949)	446
	E. coli	Hemmung des anaeroben Brenztraubensäure-Stoffwechsels. Anaerober Abbau der Glukose zu Acetat, Laktat und Formiat nicht ungestört	Barkulis J. (1953)	28

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Streptomycin		Str.-feste Variante bildet zu Beginn der log. Wachstumsphase wesentlich mehr RNS bzw. DNS als der sensible Ausgangsstamm	Beljanski M.-Grumbach F. (1953) 51
	Lupinen-Samen	Hemmung der Redoxsysteme des Lupinensamens	Macht D. J.-Hoffmaster T. E. (1951) 115
		Streptomycin bewirkt einen Anstieg des Redoxpotentials bei proliferierenden Keimen, d. h. Bakteriostase	Mulé F. (1948) 120 Drouhet E.-Kepes A. (1949) 121
		Hemmung adaptiver Fermente	Degener W. (1953) 130
	Paramaecium caudatum	Streptomycin bewirkt eine deutliche Steigerung der Teilungsfrequenz (teilungsfördernde Wirkung stoffwechselfremder Substanzen in geringen Konzentrationen — Arndt-Schulz'sche Regel — (50—200 SE/ml)	Kaunat H. (1954) 221
Chlortetracyclin (Aureomycin)	E. coli	Hemmung von aromatischen Synthesen (Indolsynthese)	Gibson F. (1955) 659
	Cl. welchii	Hemmung des Brenztraubensäure-Hydrogenlyase-Systems	Osteux R.-Laturaze J.-Bürck J. (1952) 231, 661
		(Verhinderung der Hemmung in Gegenwart von Biotin)	
	Mitochondrien aus Rattenleber- zellen	Hemmung der oxydativen Phosphorylierung (in Gegenwart von Mg, Phosphat u. ATP). Keine Hemmung in Gegenwart von AMP. In Abwesenheit von Mg ist die Aureomycin-Wirkung konzentrationsabhängig. Zugabe von Mg kann die Respirationshemmung aufheben	van Meter J. C.- Oleson J. J.-Spector A.- Williams J. H. (1952) 4

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
Chlortetracyclin (Aureomycin)	Bac. subtilis E. coli	Hemmung der Oxydasen Hemmung der Reduktase und Katalase	Baumgärtel T.- Zahn D. (1951)	41
Strukturaufklärung durch Woodward R. S. (1952) 251	Mitochondrien	Hemmung der oxydativen Phosphorylierung ohne Hemmung der Atmung von normalen Mitochondrien	Loomis W. F. (1950)	10
	E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Wagner W. H. (1950)	101
	M. smegmae	Hemmung der Bildung der Fermente zur Oxydation von Benzoesäure und Brenzkatechin	Hahn F.-Wisemann C. L. (1951)	116
Kreuzresistenz: Terramycin (obligat) 79, 192		Bereits gebildete Fermente werden nicht beeinflusst	Wagner W. H. (1950)	101
Hygromycin 292 Chloramphenicol (fakultativ) 192	Ps. aeruginosa	Hemmung der Oxydation und im geringeren Grade der Desaminierung von Phenylalanin tyrosin, Phenylserin	Bernheim F.-Deturk W. E. (1952)	87
	Rattenleberzell-homogenat	Hemmung der Oxydation von Succinat und anderen Dikarbonsäuren	van Meter J. C.- Oleson J. J. (1951)	80
	Micrococcus aureus	Blockierung des Citronensäurecyclus	Miura Y.-Nakamura Y.-Yoshizawa Y.- Matsadaira H. (1953)	79
		Hemmung der Bildung adaptiver Fermente (s. a. Oxytetracyclin)	Wong D. T. O.- Barban S.-Ajl J. (1953)	75
		Hemmung von Verbindungen, die bei der Terminalatmung beteiligt sind		

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
Chlortetracyclin (Aureomycin)	Serratia marcescens Rinderleber- homogenat Lebermitochon- drien-Ferment- system	Hemmung der Pigmentbildung (160—640 Gamma/ml) Vermutung, daß die Aureomycin-Wirkung auf einer Blockierung SH-Gruppen haltiger Fermente insbesondere des Coenzym A beruht. (Hemmung des Citronensäureabbaues). Cystein verhält sich im Fermentversuch als Aureomycin-Antagonist. Mg-Ionen setzen die Empfindlichkeit des Ferment-systems gegenüber Aureomycin herab. Mulli diskutiert die Möglichkeit einer SH-Inaktivierung durch Aureomycin infolge seiner chinoiden Struktur Aureomycin blockiert den Umsatz derjenigen Glieder des Citronensäurecyclus, die unter Kontrolle und Mitwirkung von Co A-SH gebildet werden Chemotherapeutika und Antibiotika hemmen den Energietoffwechsel durch Fermentblockade (Aufhebung von Phosphorylierungsprozessen und Atmungsvorgängen) Aureomycin + 2 CoA (SH) — CoA S-S CoA + Aureomycin H ₂ Hemmung der Glukose abbauenden Ferment-systeme	Weil A. J. (1952) Mulli K.-Uhlenbrook K.-Ludwig L. (1953)	198 2
Lebermitochon- drien		Hemmung der Oxydation der alpha-Ketoglutar-säure. Das endogene die Fermentreaktion aktivie-rende Mg wandert aus den Zentren der enzyna-tischen Aktivität zum größten Teil in das umge-	Fenner O.-Hallmann L.- Heigener H.- Lodenkämper H.- Ludwig L. (1954) van Meter J. C. (1952)	468 4

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Chlortetracyclin (Aureomycin)		bende Medium ab und bildet dort einen unlöslichen Mg-Aureomycin-Komplex	
	S. enteritidis-Breslau	Kleinste Aureomycinnengen bewirken eine Verkürzung der Latenzphase. Größere Dosen eine starke Reduzierung der Keimzahl im Sinne eines baktericiden Effekts	Grün L.-Redies H. (1953) 462
	E. coli	Hemmung durch Riboflavin Kompetitiv aufzuheben	Foster J. W. Pittillo R. F. (1953) 528
	E. coli	Hemmung der enzymatischen Reduktion der Nitrogruppen im Chloramphenicol durch zellfreie Extrakte von E. coli	Saz (1953) 11
Achromycin: übereinstimmende Ergebnisse mit Aureomycin in Tierexperiment, Bakteriologie u. Klinik 450, 467	Tierische Fermente	Hemmung der Proteinsynthese Keine Hemmung der Wirksamkeit von tier. Fermenten wie Fumarase, Lipase und Cholinesterase, auch die alkoholische Gärung durch Oberhefe wird nicht inaktiviert	Ettlinger L. (1955) 676 Jacobsohn K. P. - Azevedo M. D. (1953) 481

Antibiotika als Masthilfsmittel bei der Ernährung von Jungtieren

Die Beeinflussung der Darmflora bei Chlortetracyclin- und Penicillin-Zufütterung in den üblichen subtherapeutischen wachstumswirksamen Dosen, die 20—50fach tiefer liegen als die therapeutischen, steht außer Zweifel. Damit ist allerdings über die nutritiven Wirkungsmechanismen der Antibiotika am Tier noch nichts ausgesagt. Nach Brüggemann (825) muß z. Zt. noch offen gelassen werden, ob die Wirkung jenseits der Darmwand etwa durch direkte Beeinflussung der Regulationssysteme, als „Milieu-regulatoren für das Fermentgeschehen“ (Brüggemann 173), oder aber über den Umweg einer Beeinflussung der Darmflora zustande kommt oder ob beide Prinzipien zusammen wirksam sind.

Die Antibiotika verschieben die Relation in der Zusammensetzung der Darmflora und zwar unter Zurückdrängung der grampositiven Mikroorganismen und Erhaltung der coliformen Flora. Im B₁₂-freien Medium wächst nur *B. coli*. Auf Zusatz von 30 Gamma B₁₂/1000 ml Substrat wachsen alle isolierten Stämme. B₁₂ kann bei diesen Stämmen durch ein Kulturfiltrat von *E. coli* ersetzt werden. *E. coli* ist unabhängig von der Zufuhr an Vitaminen und essentiellen Aminosäuren. Die Arten, die durch die Antibiotikafütterung zurückgedrängt werden, sind mehr oder minder vitamindefizient, entziehen also ihrem Substrat Vitamine und Aminosäuren, während der Antibiotika-resistente *E. coli* als ausgesprochener Vitamin-Produzent zu betrachten ist. Die grampositive Flora beträgt beim Schwein normal $\frac{1}{8}$ der Gesamtfloora, nach Antibiotika-Gaben sinkt sie auf Null ab. Eine der Wirkungen der Antibiotika-Zufütterung beim Schwein ist in einer Erhöhung des Vitaminspiegels und vielleicht auch der essentiellen Aminosäuren im Darm zu suchen. (427). Bei diesem Erklärungsversuch würde es sich also um Hemmung von Bakterien, die mit dem tierischen Organismus hinsichtlich wichtiger Nährstoffe konkurrieren, handeln (428).

Auf Grund der Untersuchungen von Francois und Michel (483), die feststellten, daß Antibiotika, hauptsächlich Aureomycin, die bakterielle Desaminierung hemmen und diesen Effekt in Beziehung zu der Wachstumswirkung dieser Stoffe bei Schweinen setzen, muß geprüft werden, ob die Wirkungsweise der Antibiotika z. T. nicht auf einer Störung des bakteriellen Eiweißaufbaues infolge mangelhafter Bildung genuiner Aminosäuren aus artfremden Eiweißen durch Hemmung der peptidspaltenden Fermentsysteme oder Blockierung von Aktivatorsystemen beruht. Die Synthese art-eigenen Eiweißes ist an eine entsprechende Aufarbeitung und Bereitstellung der dazu erforderlichen Aminosäuren gebunden. Wenn diese Voraussetzungen nicht geschaffen sind, muß zwangsläufig der Zellstoffwechsel sistieren und Wachstums- und Teilungspotenz müssen erlöschen.

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Oxytetracyclin (Terramycin)	E. coli	Hemmung von aromatischen Synthesen (Indol-synthese)	Gibson F. (1955) 659
	Cl. welchii	Hemmung des Brenztraubensäure-Hydrogen-Lyase-Systems (Verhinderung der Hemmung in Gegenwart von Biotin)	Osteux R.-Laturaze J.-Bürck J. (1952) 231, 66
	Ps. aeruginosa	Hemmung der Oxydation und im geringeren Grade der Desaminierung von Phenylalanin Tyrosin, Phenylserin Hemmung der Oxydation von Succinat und Di-carbonsäuren	Bernheim F.- Deturk W. E. (1952) 87
	E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Hahn F.-Wisemann C. L. (1951) 116
	Micrococcus aureus	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Miura Y.-Naka- mura Y.-Yoshizawa Y.-Matsadaira H. (1953) 79
		Hemmungen von Verbindungen, die an der Ter-minalatmung beteiligt sind	Wong D. T. O.- Barban S.-Ajl J. (1953) 75
		Hemmung der Pigmentbildung (5000 Gamma/ml)	Weil A. J. (1952) 198
Strukturaufklärung durch Woodward R. S. (1952) 251 Kreuzresistenz: Aureomycin Hygromycin 292	Serratia marcescens E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente. In bakteriostatischer Konzentration Einfluß auf den Nukleinsäure (RNS)-Stoffwechsel in höheren Konzentrationen Hemmung der Phosphorylierung, Hemmung des Einbaues von P 32 in säurelösliche organische Phosphate und eine Nukleinsäurefraktion	Miura Y.-Naka- mura Y.-Matsadaira H.-Komeji T. (1952) 199
	E. coli Micrococcus aureus	Hemmwirkung wird durch Caseinhydrolysat kompetitiv antagonisiert	Wacker A. (1951) 417

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Oxytetracyclin (Terramycin)	Micrococcus aureus	Keine Beeinflussung der Atmung während der Bakteriotase (Konzentration bis zu 100 Gamma/ml. Beginn der Atmungshemmung vor Einleitung der Zellteilung Wirkung in vitro kaum von der Einsaat abhängig Cystein, Glutaminsäure und PAB antagonisieren die Wirkung nicht Hemmung der Proteinsynthese	Cremo A.-Barali F. (1953) 431 Gocke T. M.-Jackson G. G.-Wilcox C.-Finland M. (1950) 440
	Tierische Fermente	Keine Hemmung der Wirksamkeit von tier. Fermenten wie Fumarase, Lipase und Cholinesterase. auch die alkoholische Gärung durch Oberhefe wird nicht inaktiviert	Ettlinger L. (1955) 676 Jacobsohn K. P.-Azevedo M. D. (1953) 481
Chloramphenicol	E. coli	Hemmung von aromatischen Synthesen (Indolsynthese)	Gibson F. (1955) 659
	Cl. welchii	Hemmung des Brenztraubensäure-Hydrogen-Lyase-Systems (Verhinderung der Hemmung in Gegenwart von Biotin)	Osteux R.-Laturaze J.-Bürck J. (1952) 231, 661
	E. coli L. casei	Nicht kompetitiver Antagonismus zwischen Chloramphenicol und Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan können nicht aus Phenylalanin gebildet werden	Wolley D. W. (1950) 71, 164 Molho D.-Molho-Lacroix L. (1952) 90
	E. coli, Bac. mycoloides, Bac. subtilis, Proteus vulgaris	sind in der Lage Chloramphenicol zu den verschiedensten inaktiven Verbindungen aufzuspalten. Chl.-Wirkung im wesentlichen von der Amidbindung abhängig	Smith G. N.-Worrel C. S. (1950) 162
	E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Hahn F.-Wisemann L. C. (1951) 116

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Chloramphenicol		Hemmung der Diaminooxydase	Owen C. A.-Karlson A. G.-Zeller E. A. 112
	Micrococcus aureus	Hemmung der Assimilation zellulär gebildeter Glutaminsäure (Einlagerung in Peptide)	Gale E. F.-Paine T. F. 109
	E. coli	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Marmur J.-Saz A. K. (1953) 99
	Hefen	Hemmung der Bildung adaptiver Fermente	Halvorson H. D.-Spiegelman S. (1952) 91
	Ps. aeruginosa	Hemmung der Oxydation und im geringeren Grade der Desaminierung von Phenylalanin, Tyrosin, Phenylserin Hemmung der Oxydation von Succinat und anderen Dikarbonsäuren Hemmung von bakteriellen Esterasen	Bernheim F.-Deturk W. E. (1952) 87
	E. coli	Hemmung der Indolsynthese Zusatz von Indol und Tryptophan hebt Wirkung auf. Anthranilsäure bzw. N-Methylanthranilsäure ist unwirksam Störung in der Freisetzung von Proteinen aus einem Nukleinsäure-Protein-Komplex dessen Bildung durch Penicillin gehemmt wird Hemmung der Pigmentbildung (640—1280 Gamma/ml)	Smith G. N.-Warrel C. S.-Swanson A. L. (1949) 68 Bergmann E. D.-Sicher S. (1952) 213
	Serratia marcescens	Prodigiosin ist als Tripyrrylmethan konstitutionell mit den Atmungsfermenten verwandt	Gale E. F. (1952) 200 Weil A. J. (1952) 193

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Chloramphenicol	E. coli	Unterbindung der Proteinsynthese. Synthese von RNS u. DNS, Phosphorylierung und Glykolyse sind nicht beeinflußt. Hypothese: Beeinflussung eines Co-Enzyms, das die Proteinsynthese steuert	Wiseman C. L.-Sma- del J.-E.-Hahn F. E.- Hopps H. E. 16
		Hemmung der Einlagerung von Glutaminsäure in Peptide. Verhütung des Einbaues von Aminosäuren oder Peptiden in höher molekulare Peptide oder Proteine	Halvorson H. D.- Spiegelmann S. 91
	Lupinensamen	Hemmung der Redoxsysteme des Samens	Macht D. J.-Hoff- master (1951) 115
	Zellfreie Bakterienextrakte	Chloramphenicol wird durch zellfreie Bakterien- extrakte reduziert (Nitritreduktase-System)	Egami F.-Ebata M.- Sato R. (1950) 129
Bacitracin		Hemmung der Proteinsynthese Bacitracin geht mit einem spezifischen Rezeptor in empfindlichen Bakterien stabile Verbindungen ein. Die unmittelbare Folge davon sind, Störungen sowohl im Nukleinsäure — wie auch im Protein- stoffwechsel und es scheint heute, daß die für das Bacitracin empfindliche Stelle dort liegt, wo Nukleinsäuresynthese und Proteinsynthese ineinander greifen. Ähnlich wirkt Penicillin	Ettlinger L. (1955) 676 Ettlinger L. (1955) 676
Neomycin		Hemmung der Proteinsynthese Nicht der gesamte Proteinzuwachs wird gehemmt, sondern nur etwa 10 ⁰ %. Es scheint demnach, daß Neomycin nur einen spezifischen Teil der Proteinsynthese blockiert, diesen aber vollständig	Ettlinger L. (1955) 676
Synergismus Neomycin + Polymyxin B Neomycin + Tyrothricin + Gramicidin + Bacitracin + Carbomycin (679)			

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Tyrothricin		Cytolytische Wirkung durch Zerstörung der osmotischen Schranke der Bakterienzelle	Ettlinger L. (1955) 676
Polymyxin		Cytolytische Wirkung durch Zerstörung der osmotischen Schranke der Bakterienzelle	Ettlinger L. (1955) 676
	Embryonale Zellen in der Gewebekultur	Hemmung des Wachstums (total bei 2500 Gamma/ml) partiell bei 300 Gamma/ml)	Metzger J. F.-Fusillo M. H.-Kahns D. M. (1952) 678
		Empfindliche Keime absorbieren wesentlich mehr Antibiotikum als resistente	Few A. V.-Schulman J.-H. 29
Erythromycin	Tierische Fermente	Keine Hemmung tierischer Fermente wie Fumase, Lipase, Cholinesterase und Thiaminase, auch die alkoholische Gärung durch Oberhefe wird nicht inaktiviert	Jacobsohn K. P.-Azevedo M. D. (1953) 481
Furacin		Hemmung adaptiver Fermente	Gale E. F. (1951) 106
Viomycin	Embryonale Zellen in der Gewebekultur	Hemmung des Wachstums total bei 30 000 Gamma/ml	Metzger J. F.-Fusillo M. H.-Kahns D. M. (1952) 678
Gramicidin		Hemmung der oxydativen Phosphorylierung und der Bildung von Hexosediphosphat und ATP Die Leberphosphatase wird nicht beeinflusst	Yudelovich R. V.-Doklady A. K. (1950) 125

(ohne saure od. basische Gruppen, mit Hydroxylgruppen 126

Antibiotikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Akridinfarbstoffe		Hemmung der Atmungsfermente (kann durch Nukleotide und Nukleinsäuren aufgehoben werden, auch Mg wirkt antagonistisch)	Mossart L.-Pecters G.-de Ley J.-Ver- cauteren R.-Houke A. van (1947) 324
Trypaflavin		Hemmung der Nukleoid-Teilung	Piekarski G. (1951) 470
Wirkstoff	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
Natriumazid		Hemmung adaptiver Enzyme	Spiegelman S. (1947) 102a Jackson A. W. (1952) 102b
Natriumarsenat		Hemmung adaptiver Enzyme	Reiner J. M. (1948) 103
2,4-Dinitrophenol		Hemmung adaptiver Enzyme	Monod J. (1944) 104
8-Hydroxy- quinolin		Hemmung adaptiver Enzyme	Weinwright S. D.- Pollock (1949) 105
Methylenblau		Hemmung adaptiver Enzyme	Stokes J. L. (1952) 107

Chemotherapeutikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
I N H	M. smegmae	Hemmung der Diaminoxidase und Guanidin-deamidinase	Zeller E. A. u. a.	248
		Starke Hemmung der Monoaminoxidase aus Rattenleberzellen		
		Hemmung der durch Hyaluronidase ausgelösten Epidermolyse (50mg ^{0/0})	Oberste-Lehn H. (1954)	45
	Mesenchym	Bindung von Enzym-Kupfer	Buu-Hoi Ng.-Yuong Ng. D.-Binon F. Nam N. H.	180
		INH bildet mit Cu-Chelatkomplexe. Die Wirkung ist durch Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxin, Pyruvat und alpha-Ketoglutarat zu hemmen	Cymerman-Craig J.	25
		Wirkung auf den Porphyrin-Stoffwechsel Reaktion mit Fe-Porphyrinen (Gray C.T.)	Bönicke R.	44
		Hemmung der Histaminase	Baur H.-Staub H. (1953)	54
		Hemmung der Histamine	Stüttgen G. (1952)	57
		Hemmung der Tyraminoxidase. Cholin- und Bernsteinoxidase bleiben unbeeinflusst	Viollier G.-Quiring E.-Staub H. (1953)	83
		Hemmung von Katalase — spezifische Oxydationshemmung	Aronson J. D.- Ehrlich S. L.- Flagg W. (1952)	85
		Phosphatasen, Peptidasen, Lipasen und Dehydrasen bleiben unbeeinflusst	Uecker W. (1953)	86
		Wirkung auf Pyridoxal-5-phosphat (Coferment der Aminosäuren-Decarboxylase)	Voneda M.-Asano N. (1953)	157

Chemotherapeutikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor
I N H	Serratia marcescens	Hemmung der Pigmentbildung (100mg%) jedoch keine quantitativen Wuchsunterschiede	Lembke A.-Kuhn R. B.-Krüger-Thie- mer E. (1952) 287
	Bac. subtilis	Bräunung der Kolonien	Lembke A.-Kuhn R. B.-Krüger-Thie- mer E. (1952) 287
	Mycobacterium tuberculosis	Inaktivierung des Virulenz- oder Cordfaktors	Bloch H. (1952) zit. n. Fust B. (1953) 88 Grundland J. (1953) 89
	Mycobacterium tuberculosis	INH soll mit seinen beiden basischen Gruppen am Tb-Bakt. sich fixieren. Der Hydrazinrest soll sich mit der wäßrigen Phase, der N-Pol mit den freien Carboxylgruppen der Bakterien verbin- den. Block kann mit Hilfe von Ionenaustau- schern aufgehoben werden	
	Mycobacterium tuberculosis	Cyanophilie im Ziehl-Neelsen-Präparat bei bak- terio statischen Konzentrationen Kümmerlinge und Granula	
	Mycobacterium tuberculosis	Verbreiterung und Verkümmern, keulen- und spindelförmige Aufreibungen, Verdichtungen des Protoplasmas und der Granula. Bakterien- membran deutlich zu erkennen	Keßler L.-Grün L. (1952) 158 Braunsteiner H.- Mleczoch F.-Zischka W. (1953) 176
	Mycobacterium tuberculosis	Verhinderung der Zellteilung nach vollzogener Teilung der Kernäquivalente. Baldige Verflüs- sigung des Zellinhaltes und schließlich Zerfall der leeren Membranen. Vom physiol. Absterbe- vorgang unterscheidet sich der INH-Tod durch Häufung von leeren Membranen und das Zurück- treten der direkten Bakteriolyse	Krüger-Thiemer E.- Lembke A. (1952) 286

Chemotherapeutikum	Substrat Mikroorganismus	Wirkung auf den Stoffwechsel	Autor	
I N H	Mycobacterium tuberculosis	Granulation des Mykobakteriums wird als Reaktion gegen veränderte Milieubedingungen aufgefaßt, sie tritt meist an den Polen auf. Bei den Knospungsformen und den Riesenformen, die eine Länge bis zu 25 My und eine Dicke von mehr als 1 My erreichen kann, scheint eine Störung des Zellteilungsvorganges vorzuliegen, während die Bildung der Granula bis zu einem gewissen Grade weitergeht. Die Granulabildung tritt vorwiegend in der Anpassungsphase und Absterbephase auf, ist aber keine Degenerationserscheinung	Kölbel H. (1951)	369

Morphologische und zellphysiologische Studien zur Aufklärung der Wirkungsweise der chemotherapeutisch und antibiotisch wirksamen Substanzgruppen

(Überblick über die Literatur)

Das Auftreten von variablen Adaptionsformen, Degenerations- und Involutionsformen bei Mikroorganismen ist der feinste Indikator ferment-biologischer Schädigung oder sonstiger Störungen im Bau- und Betriebsstoffwechsel der Zelle. Daher wurde bereits 1949 mit allem Nachdruck bei der Beurteilung der Resistenzprüfungen in vitro neben der selbstverständlichen makroskopischen Inspektion, die mikroskopische Untersuchung des gefärbten Kulturausstrichpräparates gefordert (298). Diese Forderung einer Mikroauswertung wurde von anderen Untersuchern später anerkannt (637).

Schon Robert Koch war die Variabilität unter dem Einfluß äußerer Bedingungen eine Selbstverständlichkeit. An die Stelle starrer bakteriologischer Systematik muß eine dynamische Morphologie treten. Im Phasenkontrastverfahren ist eine Beobachtung morphologischer Entwicklungsreihen am lebenden Objekt möglich geworden, im flüssigen Medium gelingt auf diesem Wege eine klare dreidimensionale morphologische Charakterisierung lebender Bakterien.

Ein erstes morphologisch erfaßbares Anzeichen für eine beginnende Schädigung ist das Auftreten von Anpassungsformen zur Anpassung an ein normales Milieu (475). Bei fortdauernder oder stärkerer Schädigung finden sich fließende Übergänge zu den sog. „Formae pathologicae“, den Degenerationsformen oder Absterbeformen. Eine sichere Abgrenzung ist nicht möglich. Die Degenerationsform generell als Anpassungsform (475) zu bezeichnen ist nicht richtig. Diese Adaptions- und Degenerationsformen sind nach unseren derzeitigen Kenntnissen als weitgehend unspezifisch (327, 672) aufzufassen. Grieder (812) sowie Bringmann sind anderer Ansicht. Auch bei alternden Mikroorganismen sowie bei Mangelbedingungen (307, 391, 365, 328, 343) beobachten wir infolge Adaptionsantagonismus, partieller oder totaler Antibiotika-Dependenz, Nährbodenerschöpfung, Anreicherung allgemeiner Stoffwechselprodukte, durch extreme pH-Verschiebungen, u. U. durch O₂-Mangel, sowie durch Zusätze z. B. von Protaminsulfat (817) ähnliche Involutionsprozesse.

Als wichtigste strukturell-morphologische und färberische Veränderungen und Atypien nach Einwirkung von Chemotherapeutika und Antibiotika auf Mikroorganismen sind beschrieben:

Pleomorphie (411, 412), Riesenwuchsformen, Langwuchsformen (305, 325, 327), Mikro- und Zwergformen, Schwellformen, streifenförmige Aufhellungszonen als Ausdruck einer beginnenden Retraktion des Protoplasmas, zentrale Verdichtungen, segmentierte Formen mit metachromatischen Granula (333), Zigarrenform und Ansätze zur Verzweigung (362), Kapselschwund, Verlust der typischen Färbbarkeit, Verlust der Säurefestigkeit bei Mykobakterien, Filamente und Fadenformen, Diplokokken- und Tetradenbildung, kokkoide Mikrostäbchen, kolbige Anschwellungen, an den Polen, Riesenstäbchen, wolkige Aufhellungen des Zelleibs, intrazelluläre Granulierung, Absterbeerscheinungen und Lyse.

Diese Formen wurden bei der überwiegenden Mehrzahl der grampositiven, gramnegativen und säurefesten Bakterien und Bazillen in Abhängigkeit von der Konzentration der Schadstoffe mehr oder weniger ausgeprägt beobachtet. Sie treten besonders häufig nach Einwirkung folgender Stoffe auf.

Sulfonamide	298, 313, 314, 320, 333, 338, 349, 358, 422, 423, 424, 425, 426, 472, 484, 485, 812, 816
Penicillin	293, 298, 305, 306, 309, 331, 333, 335, 336, 337, 344, 348, 349, 350, 352, 360, 362, 365, 366, 386, 387, 388, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 407, 448, 672, 701, 702, 707, 812
Streptomycin	298, 306, 345, 349, 357, 359, 394, 397, 400, 401, 402, 407, 447, 672, 704, 705, 812
Chloramphenicol	37, 127, 128, 330, 349, 403, 404, 407, 672, 694, 695, 696, 812
Chlortetracyclin	37, 349, 405, 406, 407, 672, 812
Oxytetracyclin	37, 672, 812
Erythromycin	811
Bacitracin	331
Gramicidin-S	354
Tromalyt	703
INH	286, 364, 370, 371, 700
PAS	329, 345, 369
Thiosemicarbazon	334, 345, 347, 357
Rhosil	473
Carlinaoxyd	300, 304
Quaternäre Ammoniumbasen	349
Bilamid	298
Rivanol	298
Harnstoff	356
Urethan	408
Dichloroäthylmenthylamin	408
Hg-Verbindungen	349, 484, 816
UV-Strahlen	432
Formaldehyd	484, 486
Atebrin	350
H ₂ O ₂	453
Methyl — bis (β -chloräthyl)-amin	452
Ultraschall	32, 260
Neomycin	37
Polymyxin-B	37
Phenole	812, 813
Aldehyde	812
Arsen	812
Jod	812
Lithiumchlorid	814
Magnesiumsulfat	815

In den vorstehend zitierten Arbeiten werden im allgemeinen nur einzelne oder kleine Gruppen von Stoffen untersucht. Ein Vergleich der Befunde unter sich ist dadurch sehr erschwert. Bringmann (893) Grieder, Neipp und Meier (812) haben nun versucht mit morphologischer Methodik an mit speziellen Methoden gefärbten Abklatschpräparaten mit Hilfe der Mikrokinematographie eine Reihe von antibakteriellen Wirkstoffen in suboptimalen Konzentrationen in bezug auf ihre strukturell-morphologischen, cytologischen und färberischen Einfluß auf *E. coli* zu prüfen und ihren Wirkungstyp zu charakterisieren. Sie fanden bei gemeinsamen aber auch unterschiedlichen Merkmalen eine überraschende Vielgestaltigkeit morphologischer Effekte und glauben damit bestimmte Wirkungsgruppen aufstel-

len zu können. Auch wir glauben, daß das Bakterium ähnlich wie die höher organisierte Zelle auf definierte Schädlichkeiten mit definierten morphologischen Veränderungen reagiert, unterscheiden aber auf Grund der Prüfung von nahezu 10 000 Präparaten streng zwischen morphologischen Veränderungen, die primär auf eine Schädigung des Bakteriencytoplasmas, der Bakterienmitochondrien und der Bakterienzellkerne zurückzuführen sind. Auch hier gibt es natürlich schwer zu differenzierende Kombinations- und sich gegenseitig überdeckende Folgewirkungen. Die Variabilität in den einzelnen Gruppen erscheint aber nach unseren Untersuchungen weitgehend konzentrationsabhängig und damit abhängig von der Expositionszeit.

Grieder, Neipp und Meier (812) unterscheiden folgende Wirkungstypen:

1. Penicillin:

Starkes Längenwachstum mit kolbigen Auftreibungen Plasma basophil. Granula acidophil. Störung innerer organisatorischer Faktoren verhindert Teilung. Intrazelluläre Bestandteile werden an bestimmten Punkten angehäuft.

2. Streptomycin:

Plasma basophil, Granula acidophil, anfänglich vermehrtes Längenwachstum, Ausbildung polarer kugelig Verdickungen (typische „Zündhölzchenform“), Quellung, Lyse, Spindelform nach Bringmann.

3. Aureomycin:

Plasma basophil, Granula acidophil, Bildung sehr langer Fäden mit kleinen Körnchen ohne bestimmte Lokalisation, gelockte Formen. Bringmann beschreibt lange Fäden mit extremer Basophilie.

4. Terramycin:

Plasma basophil, Granula basophil, auffallende Unterschiede zum Aureomycin. Langgestreckte Stäbchen mit perlkettenartigen Einschnürungen sind plump und erreichen niemals die durch Aureomycin bewirkte Länge. Fadenartige Undulationen fehlen ganz. (Gehemmtes aber kontinuierliches Teilungsvermögen, das erst bei langanhaltender Wirkung zum Stillstand kommt).

5. Chloramphenicol:

Plasma basophil, Granula basophil. Bei nur mäßiger Verlängerung Degenerationserscheinungen und Membranschädigungen in der Umgebung der Teilungskernen. Spindelformen nach Bringmann.

6. Sulfonamide:

Plasma basophil, Granula acidophil. Verlust der Stäbchenform, flächige Quellerscheinungen mit kurzen sprossenartigen Auftreibungen und einer zusammenfließenden Deshomogenisierung des Zellinhaltes. (Sulfonamide unterbinden die Zellteilung und das Längenwachstum).

7. Phenole:

Plasma basophil, Granula acidophil. Ausschaltung der Teilung, spiralförmig aufgewinkelte Schläuche, deutliche Membranschädigungen. (Desorientierung eines das Längenwachstum determinierenden Faktors.)

8. Aldehyde:

Membranschädigung, kugelige Retraktionen wie beim Streptomycin polar lokalisiert, jedoch leicht verbogene und aufgequollene Verlängerungen.

Plasma basophil, Granula acidophil.

9. Arsen:

Plasma basophil, Granula acidophil. Kugelige, subterminale Retraktion und kurvenreiche Schläuche.

10. Jod:

Plasma acidophil, granuliert basophil, Granula acidophil. Phantastische Riesenformen, spindel-, birnen- und bananenförmig mit granuliertem Zell-

inhalt (allgemeine Störungen infolge chemischer Reaktionen im Zellinnern.) Obwohl wir zunächst geneigt sind diese Variabilität als weitgehend unspezifisch anzusehen, ist es unter Heranziehung biochemischer Befunde anderer Untersucher damit möglich geworden, sich nun auch morphologisch an den der Reaktion zugrundeliegenden Prozeß heranzutasten und es dürfte damit möglich werden die spezifisch deternierenden Faktoren zu erkennen.

Eigene Untersuchungen

Auch wir haben versucht, allerdings mit abweichender Methodik unter Heranziehung zahlreicher Darstellungsverfahren bei *Micrococcus aureus* unter Einwirkung einer großen Zahl von Schadstoffen morphologisch und biochemisch gewisse Gesetzmäßigkeiten der Wirkungsweise herauszuarbeiten und dadurch wirkungsgleiche und wirkungsähnliche Gruppen abzugrenzen.

Einleitend sei kurz auf die verschiedenen Gesichtspunkte, die allgemein bei der Durchführung antibiotischer Tests zu beachten sind, hingewiesen.

Zur Erzielung von Hemmtest-Ergebnissen, die jederzeit reproduzierbar sein sollen, ist die Beachtung folgender Richtlinien unerlässlich:

1. Das Nährmilieu muß bei standardisierter Zusammensetzung ein optimales Wachstum des jeweiligen Teststammes sicherstellen. Wir nähern uns damit den Verhältnissen *in vivo*, die wir allerdings und das muß mit allem Nachdruck betont werden, nie erreichen können. Um diese Forderung zu verdeutlichen, sei an die Untersuchungen von Foster und Pittillo (24) erinnert, die bei Zusätzen von Basamin, Pepton, Leberextrakten und Herz-Hirnemulsionen zu Nährböden ein Vielfaches (bei Penicillin 2,3 mal bei Chloramphenicol 8 mal) der Antibiotika-Hemmdosis benötigen. Auch Braun (684) betont, daß die Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegenüber physikalischen und chemischen Schädigungen unter ungleichen Ernährungsbedingungen verschieden sind. Bekanntlich ist der Betriebsstoffwechsel pathogener Bakterien in seiner Intensität außerordentlich verschieden. Selbst innerhalb derselben Art gibt es anspruchsvolle und anspruchslose Stämme.

2. Zum Vergleich verschiedener Antibiotika und Chemotherapeutika in ihrer Hemmkraft auf eine und dieselbe Erregergruppe zum Zwecke der Ermittlung einer rationellen und gezielten Therapie sind nur bestimmte international bekannte und anerkannte Teststämme zu verwenden.

3. Je nach Wachstumsgeschwindigkeit und Temperaturoptimum der Testorganismen sind Bebrütungstemperatur, Wahl des Endpunktes der Ablesung und Größe der bakteriellen Einsaat festzulegen und dann konstant einzuhalten.

4. Vor Auswertung der Ergebnisse ist die Frage nach der Stabilität des Antibiotikums während der erforderlichen Bebrütungszeit abzuklären

Die von uns benützte Versuchstechnik entspricht weitgehend diesen Richtlinien. Die Versuche wurden, sofern nicht anders vermerkt, im Pipettierverfahren in Brain Heart Infusion Broth unter Verwendung von *Micrococcus aureus haemolyticus* ATCC als Teststamm durchgeführt. Die Technik ist bereits im Kapitel Alterung beschrieben.

Versuchsprotokolle

Versuchsansatz

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen

Makroskopische Hemmwertbeurteilung

Mikroskopische Beurteilung

Wirkungsweise

Aus den Versuchsprotokollen sind jeweils nur die wesentlichen Daten und nur insoweit vermerkt, als sie zum Verständnis unerlässlich erscheinen.

I. Metalle

1a) Silbernitrat AgNO_3

Versuchsansatz: 0,1%ige und 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 16 Konzentrationstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase:

4^h 0,03 mg/ml, 16^h 0,04 mg/ml, 24^h 0,2 mg/ml, 48^h 0,2 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,2 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,2 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,01 mg/ml	Gram: starke Plasmaschädigung, Pleomorphie, verminderte Färbbarkeit, Schwellformen. JG + Vergrößerungen der Kokken PF +
0,03 mg/ml	Gram: dto. wolkige Innenstruktur. Bipolare oder exzentrisch blaue Verdichtungen im sonst roten Kokkus JG + PF +
4 ^h 0,1 mg/ml + BAL	Gram: Detritus, einzelne gramnegative Bipolarformen JG dito
24 ^h 0,1 mg/ml	Gram: Detritus, einzelne schwach gefärbte Bipolarformen JG: Kleine Bipolarform PF + (96 ^h +)
48 ^h 0,2 mg/ml + BAL	Gram u. JG Detritus. Gram u. JG normal

Bemerkung: ab 0,3 mg/ml bis 0,5 mg/ml ist die Bouillon opaleszent, ab 0,5 mg/ml infolge der Eiweißfällung durch Ag getrübt.

Wirkungsweise: AgNO_3 bewirkt vorwiegend eine Schädigung des bakteriellen Protoplasmas, die in höheren Konzentrationen auch von einer Schädigung der Mitochondrien gefolgt ist.

Literatur: Ag-Wirkung beruht auf einer Blockierung freier COOH- und SH-Gruppen. Die Cysteindesulfurase befähigt einige Bakterienarten diese Hemmung durch Abspaltung von H_2S und Bildung von unwirksamem AgS. Nach 15 Min. ist die Fixierung vollzogen (827). Minimale Hemmkonzentration gegenüber Mykobakterien 1,7 γ /ml (529).

- * Bakteriostase = Als Bakteriostase wurde eine Keimwachstumshemmung angesprochen, falls sie in dem erwähnten Zeitintervall als fehlende Trübung in Erscheinung trat. In der Subkultur war das Wachstum nicht gehemmt.
- * Baktericidie = wurde mikroskopisch wie Bakteriostase beurteilt. In der Subkultur blieb jedoch ein Keimwachstum aus.
- * BAL-Schutz = Aufhebung der bakteriostatischen bzw. baktericiden Wirkung bei Zugabe von 0,5 mg BAL auf jeweils 10 ml Bouillon.

1 b) Albargin — Hoechst (Gelatosesilber DAB 6)

Versuchsansatz: 0,4 g/10 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,004 mg/ml — 8,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen (4,0 γ /ml).

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,04 mg/ml, 18^h 0,8 mg/ml, 48^h 0,8 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,8 mg/ml.

Glutathion: Begrenzter Schutz nur bei 0,04 mg/ml, nicht jedoch bei 0,4 — 0,8 mg/ml.

BAL: Schutz bei 0,8 mg/ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h u. 18^h 0,04 mg/ml Gram: Gramnegative Kokkenschatten
JG: Kleine Punktform, viele Zellen grün-violett

4^h u. 18^h 0,004 mg/ml Wachstum unter BAL + + +, Glutathion + Wachstum + + +

4^h Gram: Halbmonde und Siegelringe JG + PF +
18^h Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, rote Kokkenschatten und blauen punktförmigen Körnchen JG + PF +

4^h 0,8 mg/ml + BAL Gram: verminderte Färbbarkeit, Bipolarform, einzelne Normalformen JG + PF +
Wachstum unter BAL + + +, Glutathion —

4^h 4,0 mg/ml Gram: Fädiger Detritus, keine Zellen erkennbar
JG — PF —

4^h 8,0 mg/ml Gram: stärkste Pleomorphie bei erhaltener Färbbarkeit (Fixierungseffekt?)
JG: Punktförmige Gebilde in eben angedeuteten Plasmabereich

Wirkungsweise: Die oligodynamische Wirkung der Ag-Ionen richtet sich im bakteriostatischen Konzentrationsbereich gegen SH-abhängige Funktionsabläufe in Protoplasma und Mitochondrien. Ein vollwirksamer Schutz ist durch BAL gewährleistet (Dithiolantagonismus). Monothiole wie Glutathion sind nur sehr begrenzt wirksam und heben die Blockierung der SH-Gruppen in höheren Wirkstoffkonzentrationen nicht auf. Bei einer Konzentration von 8,0 mg/ml beobachtet man einen Protein-Fixationseffekt.

JG = Janusgrün-Färbung zur Mitochondrien-Darstellung.

PF = Perchlorsäure-Fuchsin-Färbung zur Kern-Darstellung.

Wirkungsweise = Schlußfolgerung aus den eigenen mikroskopischen Befunden.

2. Bleiazetat

Versuchsansatz: 0,1%ige und 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h minimal 0,05 mg/ml, maximal 0,1 mg/ml, 18^h, 24^h und 48^h dto

Baktericidie: > 72^h 0,1 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,1 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

- 4^h 0,01 mg/ml (Wachstum +++ — 0,05 mg/ml (Wachstum ++)
Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, randständiges Einzelkorn, Halbmonde.
JG +
- 4^h 0,1 mg/ml Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, Kokkentrümmer, Lyse
JG — einzelne staubförmige Körnchen
PF vereinzelt +
- + BAL Gram: Detritus, einzelne gramnegative Bipolarformen
JG dto
- 48^h 0,1 mg/ml Gram: und JG Detritus
+ BAL Gram und JG normal

Wirkungsweise: Pb als Schwermetall blockiert SH-Gruppen und wirkt ähnlich wie Ag primär auf Protoplasma und Mitochondrien. Dithiolantagonismus durch BAL.

Bemerkung: ab 0,1 mg/ml ist die Bouillon infolge einer Eiweißfällung durch Pb getrübt. (Eigentrübung tritt sofort vor der Inkubation unmittelbar nach Zugabe von Pb ein.)

3. Quecksilberchlorid (HgCl₂)

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ/ml — 2,0 mg/ml in 18 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,001 mg/ml (minimal 0,5 γ/ml)
= 1,0 γ/ml

24^h 0,005 mg/ml, 48^h 0,01 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,01 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,02 mg/ml

Bemerkung: ab 0,2 mg/ml bis 0,5 mg/ml ist die Bouillon opaleszent, ab 0,5 mg/ml infolge der Eiweißfällung durch Hg getrübt

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,001 — 0,005 mg/ml

Gram: starke Plasmaschädigung, Detritus, Bipolarform

JG einzelne stark ausgefärbte Formen
PF +

4^h 0,02 mg/ml + BAL

Gram: Bipolarform, Detritus JG + PF +

Wirkungsweise: Hg blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien.
Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Minimale Hemmkonzentration gegenüber Mykobakterien 27 γ/ml (529).

4. Kobalt-(II)nitrat Co (NO₃)₂ + CH₂C

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,2 mg/ml, 18^h 0,3 mg/ml, 48^h 0,3 mg/ml,

Baktericidie: $> 72^h$ 0,3 mg/ml

BAL: Schutz nur bis 0,4 mg/ml, ab 0,5 — 2,0 mg/ml irreversible Baktericidie. Evtl. verzögerte BAL-Wirkung nach 24^h

Bemerkung: ab 0,3 mg/ml 2,0 mg/ml Flockung und Trübung der Bouillon

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,01 mg/ml	Gram: Stark verminderte Färbbarkeit, Pleomorphie. Schnellformen, Biopolarformen JG + PF +
0,3 mg/ml	Gram: Körnchen- und Stäbchendetritus JG + staubförmig PF +
0,4 mg/ml	JG + staubförmig PF +
0,5 mg/ml	Gram: Lyse, Detritus JG — PF —

Wirkungsweise: Co blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien.

Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Co-Zusatz steigert Penicillin-Wirkung bis aufs doppelte (Pratt R.-Dufrenoy J. — Strait L. J. Bact. 55, 75 (1948)

Hefe: Wachstumsstillstand bei 0,02% CoCl_2 (831)

Infusorien, Abtötung innert 1 St. bei 0,1% CoCl_2 (832)

Bakteriostatische und fungistatische Wirkung (833, 834)

Minimale Hemmkonzentration gegenüber Mykobakterien 2910 γ /ml (529).

5. Nickel (II)-nitrat (Kobaltfrei reinst „Merck“ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$)

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,2 mg/ml, 18^h 0,2 mg/ml, 48^h 0,2 mg/ml

Baktericidie: $> 72^h$ 0,3 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,3 mg/ml (2,0 mg/ml irreversible Baktericidie)

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,1 gm/ml	(Wachstum + + +)
	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, gramnegative Kokken mit vereinzelt punktförmigen, oftmals randständigen dunkleren Einschlüssen JG + PF +
0,2 mg/ml	JG + staubförmig, stark verändert
2,0 mg/ml	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, Strich- und Fadenformen, keine normal-konfigurierten Kokken, Lyse, Kokkentrümmer JG Detritus, einzelne wenige Normalformen

Wirkungsweise: Ni blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien

Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Minimale Hemmkonzentration gegenüber Mykobakterien (Nisulfat) 2810 γ /ml (529).

6. Zinksulfat (ZnSO_4)

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,1 mg/ml, 18^h 0,2 mg/ml, 48^h 0,2 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,2 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,5 mg/ml

Bemerkung: Bei 0,2 mg/ml ist die Bouillon opaleszent und ab 0,3 — 2,0 mg/ml getrübt.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,01 mg/ml Gram: Rand betont blau JG + PF +

0,2 mg/ml Gram: Pleomorphie, gramnegative Formen, Bipolarformen
JG + PF + Lyse

0,5 mg/ml JG einige wenige massiv ausgefärbte Formen

1,0 mg/ml JG —

Wirkungsweise: Zn blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien

Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Minimale Hemmkonzentrationen gegenüber Mykobakterien 2840 γ /ml (529).

7. Kadmiumnitrat rein, kristallin $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}$

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,1 mg/ml, 18^h 0,1 mg/ml, 24^h 0,1 mg/ml, 48^h 0,5 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,5 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,2 mg/ml

ab 0,3 mg/ml — 2,0 mg/ml erfolgt sofort bei Zugabe Niederschlagsbildung und die Schutzfunktion fehlt.

Bemerkung: Bei 0,2 mg/ml ist die Bouillon opaleszent und ab 0,3 — 2,0 mg/ml getrübt.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,05 mg/ml Gram: Gramnegative Kokken mit randständigen, punktförmigen Plasmaverdichtungen
JG + PF +

0,1 mg/mlg Gram: Kokkenschatten, Pünktchendetritus, Lyse
JG + PF +

0,4 mg/ml Gram: stark reduzierte Färbbarkeit mit körnchenförmigen Plasmaverdichtungen JG + PF +

48^h 0,4-0,5 mg/ml Gram: Gramnegative Kokken, Bipolarform
0,4 mg/ml JG + 0,5 mg/ml JG — Trümmer
PF + PF —

Wirkungsweise: Cd blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien
Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Minimale Hemmkonzentration gegenüber Mykobakterien 3 H Cd-sulfat 77 γ /ml (529).

8. Lithiumchlorid Krist. Schering-Kahlbaum LiCl

Versuchsansatz: 1%ige Lösung wäßrig

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

4^h — > 72^h im ganzen geprüften Konzentrationsbereich findet sich un-
eingeschränktes Keimwachstum

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 2,0 mg/ml Gram: reduzierte Färbbarkeit, gramnegative Kokken mit
randständigen Halbmonden, große Körper, Groß-
und Riesenformen

JG + vielfach blaß hellgrün PF +

9. Caesiumchlorid Merck CsCl₂

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 2,0 mg/ml in 9 Konzen-
trationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

4^h — > 72^h im ganzen geprüften Konzentrationsbereich findet sich un-
eingeschränktes Keimwachstum

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 2,0 mg/ml Gram: reduzierte Färbbarkeit, Körnchendetritus, gram-
negative Formen, randständige, punktförmige und
strichförmige Plasmaverdichtungen

JG + PF +

0,1 mg/ml Gram: dto, JG +

Wirkungsweise: Anormorphogenese (766). Eingriff in die Grundvorgänge
der Formbildung ohne Funktionsstörungen der Mitochondrien (im
Protoplasmabereich). Anpassungsformen (834).

Literatur:

Lithiumchlorid: C. diphterise: Keine L-Form, keine Elemente, aber Klein-
form, Keulenform, Schlauchform, Auftreibungen (703).
(834—840)

Subtilis, grampositive und gramnegative Kokken zeigen unter
LiCl₂ keine morphologischen Veränderungen. Keine osmotischen
Einflüsse, sondern spezifisch formativer Reiz auf die wachsende
und sich vermehrende Zelle.

Biochemische Reaktionen unverändert (840).

Caesiumchlorid: CsCl₂ wirkt stärker vermehrungsbehindernd wie LiCl₂
(Fäden und Spindeln)

CsCl₂ verhindert das Wachstum von *S. paratyphi* B. in der aeroben
Zone, daher nur isolierte Hemmung der Oxybiose (840).

II. Arsenitrioxyd As₂O₃

Versuchsansatz: 1%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 3,0 mg/ml in 21 Konzen-
trationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,8 mg/ml, 24^h 1,0 mg/ml, 48^h 1,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 1,2 mg/ml

BAL: Schutz bei 1,2 mg/ml

ab 1,4 — 2,0 mg/ml nur partieller und temporärer Schutz nach 4^h
bei 3,0 mg/ml kein Schutz.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,5 mg/ml Gram: Gramnegative und Bipolarformen

JG + viel fädiger und körniger Detritus PF +

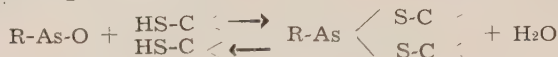
- 0,8 mg/ml Gram: violetter Körnchendetritus
 JG + grünlicher Körnchendetritus PF +
 + BAL Gram: starke Plasmaschädigung, gramnegative Formen
 JG + Pünktchen und Stäbchen PF +
 2,0 mg/ml Gram: Detritus JG z. T. Kleinstkokken, z. T. stark ausgefärbte Großformen
 72^h 1,2 mg/ml
 + BAL Gram: verminderte Färbbarkeit, wolkiges Plasma, Groß- und Riesenformen, Siegelringe, Halbmonde z. T. auch normal gefärbt
 JG + PF +

Wirkungsweise: As blockiert SH-Gruppen und schädigt primär Protoplasma und Mitochondrien.
 Dithiolantagonismus durch BAL, kein oder nur ungenügender Schutz durch Monothiole wie z. B. Glutathion.

Literatur: (841, 842, 843)

Antagonistischer Effekt von BAL in zwei Phasen

1. Schutzfunktion der SH-Gruppen im Parasiten
2. Bildung einer As-BAL-Verbindung nach dem Schema



III. Sulfonamide

1. Ladogal — Boehringer

= 40%ige Lösung von p-Aminobenzosulfonoxymethylamid-N⁴ d-glukosidsulfonsaurem Natrium

Versuchsansatz: 40%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,04 mg/ml — 160,0 mg/ml in 20 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 28 mg/ml, 24^h 40 mg/ml, 48^h —

Bakericidie: fehlt

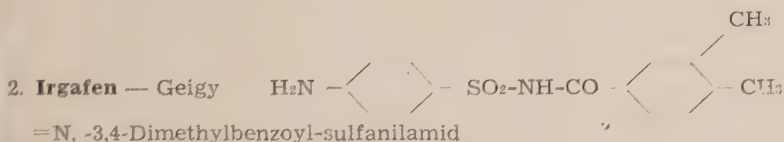
BAL: Milderung des Sulfonamideffektes. Die Feststellung eines eindeutigen Schutzeffektes ist dadurch erschwert, daß unter Ladogal eine Bakericidie oder eine hochgradige Bakteriostase über einen längeren Zeitabschnitt hin nicht gegeben ist. Die Hemmwertskala wurde nephelometrisch kontrolliert. Das Ergebnis stimmt mit der makroskopischen Ablesung gut überein.

Mikroskopische Beurteilung:

- 4^h 4,0 mg/ml Gram: normal JG + PF +
 16,0 mg/ml Gram: deutliche Anisocytose
 32,0 mg/ml Gram: große Ringformen (massiver Ring mit wolkiger Innenstruktur) JG + PF: massendichte Formen, z. T. scholliger u. kerniger Zerfall
 36,0 mg/ml Gram: Bipolarform, Halbmonde, Siegelringe
 PF: Polynukleoidformen
 40,0 mg/ml Gram: stärkste Degeneration, Riesenformen mit grobscholliger, regellos angeordneter Innenstruktur. Verklumpung, leere Membranen, Ringformen, Maulbeerformen, blaue Punktierung, Lysis, Siegelring, vereinzelt hyperchromatische Großformen
 PF: Detritus, Ring- und Halbmondformen, Quellung JG +

! BAL: Gram: Körnchendetritus, verminderte Färbbarkeit, vereinzelt Stäbchenform
JG + (Kleinform) 8 Tg.: heller Hof, dunkelgrünes Zentrum

24^h 40,0 mg/ml Gram: Detritus mit vereinzelt Normalformen



Versuchsansatz: 5%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,005 mg/ml — 15,0 mg/ml in 12 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 mg/ml (minimal) 2,5 mg/ml (maximal)

24^h 2,5 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 10 mg/ml

BAL: Schutz bei 10 mg/ml, kein Schutz bei 15 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,05 mg/ml Gram: schwache Färbbarkeit, Polychromasie, Anisocytose

2,5 mg/ml Gram: Kokkenschatten, Halbmonde

10,0 mg/ml Gram: Strichformen, Kokkenschatten

! BAL Gram: extrem verminderte Färbbarkeit, kleinste Formen

JG Kleinkörniger Detritus

3. **Cibazol** — Ciba

= Sulfanilamidothiazol

Versuchsansatz: Ampulle zu 5 cm³ — 1,0 g Sulfanilamidothiazol

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,2 mg/ml — 100,0 mg/ml in 9 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 10,0 mg/ml, 24^h 10,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 30,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 30,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,2 mg/ml (Wachstum + + +)

Gram: fast ausschließlich kleine „Nukleoidform“

JG + PF —

2,0 mg/ml Gram: Kleinform, gramnegative Formen, „Nukleoidform“

JG +

10,0 mg/ml JG vereinzelt + PF +

20,0 mg/ml JG — PF +

40,0 mg/ml Gram: Detritus, Lyse JG — PF —

100,0 mg/ml Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, Detritus, vereinzelt „Nukleoidform“ und Körnchenform

JG — (nur Kokkenschatten und Detritus)

4. Gantrisin — Roche

= 3,4 Dimethyl-5-sulfanilamido-isoxazol

Versuchsansatz: Ampulle zu 5 cm³ = 2,0 g Wirkstoff

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0.04 mg/ml — 100.0 mg/ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase 4^h 4,0 mg/ml, 24^h 20,0 mg/ml, 48^h 40,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 40,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 100 mg/ml (temporär bis 24^h — nach 8 Tagen kein Wachstum mehr)

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	2,0 mg/ml	Gram: Vergrößerung der Kokken bei normaler und reduzierter Färbbarkeit, Bipolarformen, Fadedetritus JG + PF +
	4,0 mg/ml	Gram: Lysis, daneben Kokken in subnormaler Größe
	20,0 mg/ml	Gram: Lyse, Riesenformen mit körnigem Zerfall JG +
	+ BAL	Gram: Großformen bis zur 5fachen Kokkengröße mit randständigen dunkelblauen Pünktchen (pro Zelle 1—2). Plasma der Großformen wolkig. Z.T. Großformen mit körnigem (blaue Granula) Plasma JG + Detritus
	40,0 mg/ml	Gram: Kleinformen, Strichformen JG — PF —
24 ^h	80,0 mg/ml	Gram: Fädiger Detritus, vereinzelt Körnchen ohne organische Zuordnung zu Plasmateilen JG — PF —
4 ^h	100,0 mg/ml	
	+ BAL	Gram: Großformen, Riesenformen mit körnigem Plasma JG + PF +

5. Elkosin — Ciba

= 6-Sulfanilamido-2,4-dimethylpyrimidin

Versuchsansatz: Ampulle zu 5 cm³ = 1,0 g Wirkstoff

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,2 mg/ml — 100,0 mg/ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 10,0 mg/ml, 24^h 20,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 40,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 40,0 mg/ml, kein Schutz bei 100,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,2 mg/ml	(Wachstum +++) Gram: stark verminderte Färbbarkeit, überwiegend „Nukleoidformen“ JG + PF +
	40,0 mg/ml	Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, kleintraubiger Detritus JG + PF + + BAL JG + polymorph
	100,0 mg/ml	Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, Detritus, vereinzelt „Nukleoidform“ und Körnchenform JG + Detritus, Kokkenschatten + BAL JG —
24 ^h	+ BAL	JG — Plasmakugeln, teratologische Formen

6. Diazil — Cilag

= 2-(p-Aminobenzolsulfonylamino)-4,6-dimethylpyrimidin

Versuchsansatz: 20%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,02 mg/ml — 80,0 mg/ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 10,0 mg/ml, 24^h 14,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 20,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 80,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,02 mg/ml (Wachstum +++)

Gram: Riesenformen, verminderte Färbbarkeit, Siegelringe

JG + PF +

0,2 mg/ml (Wachstum +++)

Gram: Großformen, Splitter und Stäbchen, einzelne Normalformen, verminderte Färbbarkeit

PF + JG +

16,0 mg/ml Gram: Körnchen und Stäbchendetritus. JG +

18,0 mg/ml Gram: vereinzelt Halbmonde und Siegelringe. JG +

40,0 mg/ml Gram: Degenerationsformen, Lyse, Splitter, Körnchen, vereinzelt Großformen

JG + schlecht färbbares hellgrünes Plasma, dunkles Korn

+ BAL JG + hellgrünes Plasma ohne dunkles Zentrum

80,0 mg/ml + BAL JG + Körnchen, Großformen (2—3fache Kokkengröße)

Bemerkung: Die Konzentrationsstufen von 6,0 mg/ml — 80 mg/ml sind nach 24^h-Inkubation bei 37° C auskristallisiert.

7. Dosulfin — G 21815 — Geigy

Kombination von N₁-(4-Isoprop-oxy-benzol-p-aminobenzolsulfonamid + N₁-(4-Methylpyrimidyl-(2)-p-aminobenzolsulfonamid

Versuchsansatz: 20%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,2 mg/ml — 40,0 mg/ml in 13 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 4,0 mg/ml, 24^h 10 mg/ml (minimal)

16 mg/ml (maximal)

Baktericidie: > 72^h 16,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 16,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 10,0 mg/ml Gram: Körnchendetritus JG + viel Detritus PF +

16,0 mg/ml Gram: — JG — strukturlose Massen PF —

40,0 mg/ml + BAL Gram: Körnchendetritus, JG —

Bemerkung: Dosulfin fällt bei Bebrütung bis zu 8 Tagen bei 37° Grad C und höchster Konzentration im Gegensatz zu Diazil nicht aus.

Wirkungsweise der Sulfonamide:

Die Sulfonamide haben alle ein gemeinsames Wirkungsprinzip. Je nach den Struktureigentümlichkeiten des jeweiligen Sulfonamid-derivates stehen Schädigungen an Protoplasma oder Mitochondrien oder Bakterienzellkern oder kombinierten Funktionsstörungen an erster Stelle.

Dithiolantagonismus durch BAL (nicht absolut)
Dosulfin, ein Präparat, das auf dem Prinzip der Sulfa-Addition beruht, übertrifft in der Wirkungsintensität und Löslichkeit die Spitzensulfonamide der Gruppe der Dimethylpyrimidine.

IV. Aldehyde

1. Bilamid — Cilag

= Pyridin-3-carbonsäure-oxymethylamid

Versuchsansatz: 4%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,4 mg/ml — 8,0 mg/ml in 7 Konzentrationstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 1,6 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 2,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 8,0 mg/ml (verzögerter Wirkungseintritt — nach 16—24^h)

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,4 mg/ml (Wachstum + + + +)

Gram: Aniso- und Poikilocyctose JG + PF +

0,8 mg/ml (Wachstum + + +)

Gram: Quell-, Ring- und Semmelformen, Halbmonde „Gänseblümchen“, Lyse, Siegelringe, Riesenzellen mit intracytoplasmatischer Granulierung
JG + PF +

1,6 mg/ml Gram: ganz vereinzelt Riesenformen, keine Normalformen
JG + PF +

2,0 mg/ml Gram: Färbbarkeit ad maximum reduziert, Lysis
JG graugrüner Detritus PF +

4,0 mg/ml Gram: Kokkenschatten, Polymorphie stark ausgeprägt (Fäden, Lanzett, Hantel, Tennisschläger)
JG + PF +

+ BAL Gram: „Nukleoidformen“, Körnchenform, Halbmonde, Plasmaschädigung. JG +

8,0 mg/ml Gram: Detritus in der stark verminderten Färbbarkeit
JG vereinzelt „Nukleoidformen“

+ BAL Gram: „Nukleoidformen“, Halbmonde, Plasmaschädigung
JG: Pünktchenformen, starke Plasmaschädigung

Wirkungsweise von Bilamid:

Bilamid besitzt eine gedeckte Aldehydkomponente und eine hepatotrope Nikotinsäureamidbasis. Die Inaktivierung des Eiweißträgermoleküls der bakteriellen Dehydrasen durch freigesetztes H₂ bewirkt Baktericidie. Zusätzlich entfaltet die 2. Wirkkomponente, das Niacin, als Inhibitor der Atmung eine bakteriostatische Wirkung. Es handelt sich beim Bilamid demnach um ein bivalentes Desinfiziens (844—847).
Dithiolantagonismus durch BAL.

2. C 1669 — Cilag

= Natriumsalz des 3-Oxymethyl-carbamino-5-carboxy-pyridins

Versuchsansatz: 20%ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,2 mg/ml — 40,0 mg/ml in 9 Konzentrationstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 1,0 mg/ml (minimal), 1,5 mg/ml (maximal)

Baktericidie: $> 72^h$ 2,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 2,0 mg/ml — kein Schutz bei 40,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,2 mg/ml	(Wachstum + + + +)
	Gram: reduzierte Färbbarkeit, Anisocytose
	JG + PF +
2,0 mg/ml	Gram: dto. JG + PF +
4,0 mg/ml	Gram: schlecht färbbarer Kokkendetritus
8,0 mg/ml	Gram: Riesenformen, körniger Kokkendetritus
40,0 mg/ml	Gram: Lysisformen, Kleinformen, stark verminderte Färbbarkeit. JG — PF —

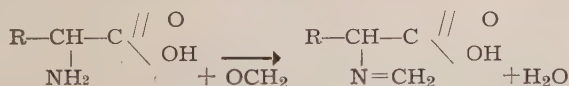
Wirkungsweise:

C 1669 ist ein Bilamid-Abkömmling, der als eine Verbindung mit den chemotherapeutisch optimalen desinfektorischen pharmakodynamischen Eigenschaften des vorliegenden Konstitutionstypus erkannt wurde. Im Tierversuch ist C 1669 nach Acklin (848) dem Bilamid ebenbürtig bzw. als überlegen zu bewerten. Im mikrobiologischen Test ergibt sich nach den vorliegenden Untersuchungen hinsichtlich der Wirkungsintensität eine eindeutige Überlegenheit des C 1669 schon aus dem Grunde, daß C 1669 in 20% stabil in Lösung zu halten ist, während dies zuverlässig beim Bilamid nur bis zu 4% möglich ist.

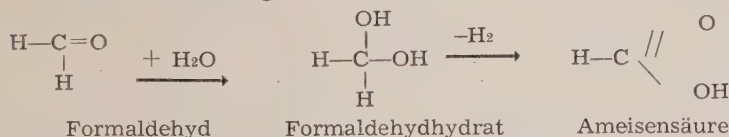
Dithiolantagonismus durch BAL (nicht absolut).

Aldehyde wirken als Protoplasmagifte.

Eine Hemmung oder gar eine Zerstörung dieser wichtigen Oxydationsenzyme verhindert die Zellteilung, d. h. die Proliferationsfähigkeit der Bakterienzelle, indem die für die Zellteilungsvorgänge (Wachstum, Teilung) notwendige Oxydationsenergie fehlt. Dadurch gelingt es den natürlichen antibakteriellen Kräften des Organismus (Autolyse, Antikörper, Phagocyten) die klein gebliebene Zahl wenig lebensfähiger, schädlicher Eindringlinge endgültig zu vernichten.



Nach W. Frei findet diese Reaktion auch am Eiweißträgermolekül der Dehydrasen statt und wie andere Aldehyde tritt auch der Formaldehyd als H₂-Donator in Erscheinung.



Durch den Einbau eines entsprechenden Amins oder Amids kann der Redoxcharakter variiert werden (in großem Bereich).

Es kommt auf die Konzentration des Aldehydes an, ob dieser als H₂-Akzeptor (Hemmung = Koagulationswirkung nach W. Frei) oder als Donator (Förderung der Methylenblaufärbung) in Erscheinung tritt.

Die Behandlung von gramnegativen Bakterien mit neutralem 5%igem Formaldehyd zerstört die Fähigkeit eines Teiles der Zellen mit basischen Farbstoffen zu reagieren. Die Zahl der verändert reagierenden Zellen ist eine Funktion des Kulturalters (alte Kulturen lassen dieses Reaktionsvermögen in höherem Maße vermissen). Dieser Effekt ist zu verhindern oder

zu kompensieren durch Behandlung der Zellen mit H⁺-Jonen (5% wäbr. Formaldehydlösung pH 7,0, Färbung mit Thionin) (894).

Die größte stabilisierende Wirkung hat Formaldehyd bei einem pH-Wert von 6—8 (895).

3. Ciloprin — Cilag

= Na-4-carboxymethylamino-4'-aminodiphenylsulfon 0,83 %

N, N'-Dioxymethylcarbamid 0,4%

Glycerin 78,33%

Aqua dest. 20,43%



(Kombination von Sulfon-Cilag und Methural-Cilag)

Versuchsansatz: Handelsübliche Lösung

(in 1 cm³: 0,83 mg/ml Sulfon und 0,41 mg/ml Methural)

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,083 (bzw. 0,041) mg/ml — 0,83 bzw. 0,41 mg/ml in 3 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4h 0,083 (bzw. 0,041) mg/ml, 24h 0,83 (bzw. 0,41) mg/ml

Baktericidie: 72h 0,83 (bzw. 0,41) mg/ml

BAL: Schutz bei 0,83 (bzw. 0,41) mg/ml

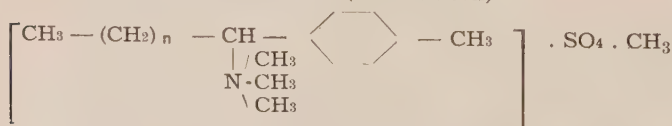
Mikroskopische Beurteilung:

4h 0,083 (bzw. 0,041) mg/ml	Gram: reduzierte Färbbarkeit, Anisocyten, Stäbchenform JG + PF +
0,83 (bzw. 0,41) mg/ml	Gram: Detritus, Lyse, Kokkenschatten JG — PF —
+ BAL	Gram: Nukleoidform, gramnegative Formen JG +

Wirkungsweise: siehe unter Sulfon und Methural, ein prinzipiell anderer Effekt in der Kombination scheint nicht vorzuliegen.

Literatur: Viele Proteus und Mesentericus-Stämme sind resistent, bei Pyocyaneus und Subtilis ist Ciloprin nur bakteriostatisch wirksam (849).

V. Quartäre Ammoniumbasen (Invertseifen)



= Methyl-phenyl-dodecyl-trimethyl-ammonium-methosulfat

Versuchsansatz: ≈ 0,04% wässrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,04 γ/ml — 0,08 mg/ml in 7 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4h 0,4 γ/ml, 24h 0,4 γ/ml, 48h 0,02 mg/ml

Baktericidie: > 72h 0,02 mg/ml

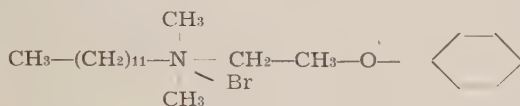
BAL: Kein Schutz nachweisbar

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,2 γ/ml	Gram: Faden- und Strichformen	JG + PF +
0,4 γ/ml	Gram: Kleine Nukleoidformen	JG + (staubähnlich)
0,08 γ/ml	JG Lysis	PF —

2. Bradosal — Ciba

= Phenoxyethyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid



Versuchsansatz: 40 mg⁰/ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,04 γ/ml — 0,08 mg/ml in 7 Konzentrationstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,4 γ/ml, 24^h 0,4 γ/ml

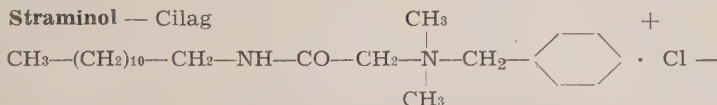
Baktericidie: > 72^h 0,02 mg/ml

BAL: Kein Schutz nachweisbar

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,04 γ/ml	(Wachstum + + +)
	Gram: Gramnegative Nukleoidformen (sehr klein)
	JG + PF +
4,0 γ/ml	Gram: Detritus, Körnchen
	JG Einzelkokken mit Korn
	+ BAL Detritus PF +
0,08 mg/ml	Gram und JG vereinzelt Kleinstkorn
	+ BAL JG Körnchen, Staub

3. Straminol — Cilag



= Dodecyl-carbamyl-methyl-benzyl-dimethyl-ammoniumchlorat.

Bakteriostase: 4^h 0,2 γ/ml, 24^h 0,4 γ/ml, 72^h 0,4 γ/ml

Versuchsansatz: 4⁰/ige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,04 γ/ml — 8,0 mg/ml in 10 Konzentrationstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Baktericidie: 72^h 0,4 γ/ml

BAL: Kein Schutz nachweisbar.

Bemerkung: Nach 3stündiger Bebrütung bei 37° C trat bei den Konzentrationstufen 0,4 — 0,8 mg/ml eine Trübung mit zitronengelbem Bodensatz auf.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,04 γ/ml	(Wachstum + + +)
	Gram: z. T. verminderte Färbbarkeit und Schwellformen (in etwa 2facher Kokkengröße), daneben normale Formen. Inhomogene Innenstruktur (Schollenbildung)
	JG + PF +

0,2 γ/ml	Gram: Großformen mit wolkigem Plasma, Lyse JG + (wenig)
0,4 γ/ml	Gram: Lyse, Körnchenformen, stark verminderte Färbbarkeit.

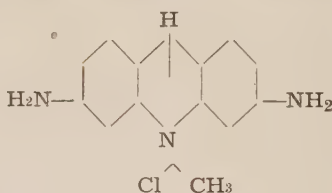
Wirkungsweise:

Die quartären Ammoniumbasen — Invertseifen oder Kationische Seifen — reagieren nach Kuhn und Bielig (850) in Abhängigkeit vom pH mit Proteinen, Prodeiden und eiweißhaltigen biologischen Systemen (Fermente, Gene) und führen zu Fällung, Komplexbildung und Denaturierung. Die antibakterielle Aktionsfähigkeit ist eine Funktion ihres chemischen Bautypus (851—853). Die Wirkung richtet sich gleichermaßen gegen Plasma, Kern und Mitochondrien. Die Invertseifen denaturieren diese Struktur.

Dithiolantagonismus: fehlt, d. h. BAL-Zusätze sind wirkungslos.

VI. Akridinfarbstoffe

1. Trypaflavin — Hoechst



= 3,6-Diamino-10-methyl-acridiniumchlorid

Versuchsansatz: 100%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,1 γ/ml — 2,0 mg/ml in 15 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,01 mg/ml (minimal), 0,1 mg/ml (maximal), 48^h dto.

Baktericidie: > 72^h 0,1 mg/ml

BAL: Kein Schutz nachweisbar.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,01 mg/ml	Gram: massive Degeneration, Riesenformen, Kokkenvergrößerung bei reduzierter Färbbarkeit (Sediment: noch viele normale Formen, vereinzelt isomorphe gramnegative Formen) JG + große Zellen mit randständiger Farbverdichtung, Bipolarformen PF +
0,05 mg/ml	Gram: blaue Sichelformen
0,1 mg/ml	Gram: Lyse, Degenerationsformen, deutlich reduzierte Färbbarkeit JG — PF —
0,8 mg/ml	Gram: sehr schlecht färbbarer Kokkendetritus
1,0 mg/ml	Gram: Einzelkokken in normaler und subnormaler Größe, Trabantenkonfiguration stark reduzierte Färbbarkeit
2,0 mg/ml	Gram: Lyse JG — Zelltrümmer PF —

Wirkungsweise:

Trypaflavin schädigt primär die Stoffwechselprozesse im Protoplasma, erst sekundär sind Mitochondrien und Bakterienzellkern betroffen. Die von Leiner (265) beobachtete Teilungshemmung der Nukleotide unter Trypaflavin ist demnach keine primäre Wirkung, sondern eine Folgewirkung nach Blockierung des Nukleinsäurestoffwechsels im Plasma.

Dithiolantagonismus fehlt, d. h. BAL-Zusätze sind wirkungslos.

Literatur:

Nach Wagner-Jauregg (858) bringt Trypaflavin das Bakterienwachstum zum Stillstand, indem es sich mit der für den Aufbau der Zellnukleotide notwendigen Nukleinsäure zu nicht mehr reaktionsfähigen Komplexsalzen verbindet und dadurch das Fermentsystem der Zelle hemmt. In vitro konnte die Salzbildung mit Nukleinsäure bestätigt werden (859).

Cytologisch bewirkt Trypaflavin ähnlich dem Urethan eine Mitosehemmung in der Prophase. Trypaflavin wirkt aber auch auf das Ruhestadium der Chromosomen (859). Trypaflavin hemmt nicht die Beweglichkeit und Phagocytosefähigkeit der WBK. Dieser Befund erscheint besonders interessant im Hinblick auf die Feststellung, daß die Trypaflavin-Hemmung durch SH-Gruppen-haltige Stoffe nicht abzuschwächen oder gar aufzuheben ist. Wie wir im folgenden noch sehen werden, ist die Lokomotion bei Mikroorganismen von SH-Gruppen abhängig. In dem zitierten Befund von Bauch (859) sehen wir einen weiteren Beweis für diese These.

Pyridin — Boehringer

Versuchsansatz: 100-mg-%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 0,2 mg/ml in 4 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 mg/ml, 24^h 0,2 mg/ml, 48^h 0,2 mg/ml, 72^h 0,2 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Schutz bei 0,2 mg/ml

Pyridacil — Cilag

= 3-Phenylazo-2,6-diaminopyridin-HCl

Versuchsansatz: 100-mg-%ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,04 γ /ml — 0,2 mg/ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,08 mg/ml, 24^h 0,1 mg/ml, 48^h 0,2 mg/ml, 72^h 0,2 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Schutz bei 0,2 mg/ml (Glutathion ist unwirksam!)

Mikroskopische Hemmwertermittlung:

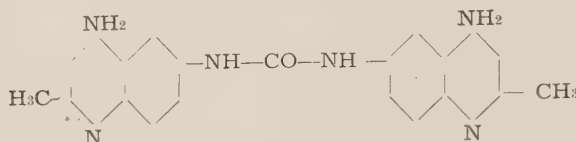
4 ^h 4,0 γ /ml	(Wachstum + + +)
	Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, staubförmige blaue Körnchen in roten Kokkenschatten
	JG + wolkige Innenstruktur, stark ausgefärbte Formen
	PF +
0,08 mg/ml	Gram: „Nukleoidstäbchen“ sehr schlank, vereinzelt Großformen, sonst wie bei 4,0 γ /ml
	JG + viel schlecht färbbarer Detritus „Nukleoidstäbchen“
+ BAL	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, „Nukleoidformen“
	JG + Körnchen PF +

Wirkungsweise:

Die Pyridine bewirken vorwiegend eine Schädigung des bakt. Protoplasmas, die in höheren Konzentrationen auch von einer Schädigung der Mitochondrien gefolgt ist.
Dithiolantagonismus durch BAL.

Surfen

Bis-2-methyl-4-amino-chinolyl-6-carbamid-hydrochlorid.



Surfen-Harnstoffgemische haben eine synergistische bakteriostatische Wirkung von der Größenordnung der Penicillin-Hemmkraft.

Versuchsansatz: 0,2 g / 10 ml = 2%ige Lösung bzw.
0,4 g / 10 ml = 4%ige Lösung.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,02 mg/ml — 8,0 mg/ml in 10 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,02 mg/ml, 24^h 0,02 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,1 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,02 mg/ml, kein Schutz bei 0,1 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,02 mg/ml Gram: Detritus JG +

+ BAL Gram: Gramnegative Formen

JG + Splitter- und Körnchendetritus

4^h 0,1 mg/ml Gram: — JG — (leere Hüllen)

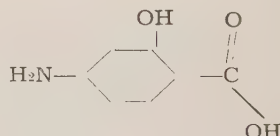
+ BAL dto.

Wirkungsweise:

Surfen blockiert in schwacher Konzentration SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. In höherer Konzentration wirkt es als allgemeines Zellgift und greift an Protoplasma, Mitochondrien und dem Kern gleichermaßen an.

PAS — Cilag

= p-Aminosalicylsäure



Versuchsansatz: 40%ige wäßrige Lösung des Na-Salzes der PAS (Na-Salz ist leicht löslich. Die Lösung ist nicht autoklavierbar — Zersetzung über 80° C).

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,32 mg/ml → 80,0 mg/ml in 10 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 3,2 mg/ml, 24^h 6,4 mg/ml, 48^h 6,4 mg/ml

Baktericidie: > 72^h — 8 Tage 20,0 mg/ml

BAL: Begrenzter Schutz (nur Wachstumsstimulierung) bei 9,6 mg/ml, 12,8 mg/ml und 16,0 mg/ml.

Kein Schutz ab 20,0 mg/ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,32 mg/ml Gram: Halbmonde, Siegelringe, gramnegative Formen
JG + PF +

3,2 mg/ml Gram: schlecht färbbarer Detritus
JG + PF +

6,4 mg/ml	Gram: Detritus, Polymorphie, Polychromasie JG + PF +
20,0 mg/ml	Gram: schlecht färbbare, gramnegative mono- und bipolare Formen JG + (nur vereinzelt) PF —
80,0 mg/ml	Gram: Detritus, schlecht färbbar, Körnchen JG — PF —

Wirkungsweise: PAS wirkt spezifisch antituberkulös (Bakteriostase bei M. Tbc: 0,019 — 0,156 mg %). In diesem Konzentrationsbereich werden andere Erreger praktisch nicht beeinflusst. In höheren Konzentrationen blockiert PAS primär die Funktionen des Plasmas. BAL vermag nur das Wachstum zu beschleunigen, nicht aber entscheidend die Wirkung zu antagonisieren. Die PAB entfaltet einen Anti-PAS-Effekt.

Literatur: PAS verdrängt die PAB, die zum Aufbau des Coenzyms F notwendig ist. Eingriff in den Wirkungsmechanismus der ähnlich dem Folsäurestoffwechsel der SA (885)

Sulfon — Cilag

= Na-4-carboxymethylamino-4-aminodiphenylsulfon



Versuchsansatz: 10%ige Lösung von Sulfon-N-acetat mit einem Gehalt von 76,6% Diaminodiphenylsulfon

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,07 mg/ml → 383,0 mg/ml in 12 Konzentrationstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4h 153,2 mg/ml

Baktericidie: fehlt

Mikroskopische Beurteilung:

4h 153,2 mg/ml Gram: reduzierte Färbbarkeit, Großformen vereinzelt, normale Trauben
JG + PF +

Wirkungsweise: Monosubstituierte Sulfone wirken spezifisch nur auf Mykobakterien. Therapeutisch werden sie mit gutem Erfolg bei der Lepra eingesetzt. Bei Mikrokokken ist das Sulfon praktisch unwirksam.

Isonikotinyldiazin (INH)

Rimifon — Hoffmann — La Roche
Azuren — Cilag

Versuchsansatz: 2,5%ige Lösung (Ampulle 2 ml/50 mg)

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,25 γ/ml → 10,0 mg/ml

Mikroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4h 5,0 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Wachstumsstimulierung bei 5,0 mg/ml und 10,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4h 1,25 mg/ml Gram: Riesenformen mit Vakuolen
JG + PF +

2,5 mg/ml Gram: starke Plasmaschädigung, deutlich blaues Korn

5,0 mg/ml Gram: stark reduzierte Färbbarkeit mit punktförmigem blauem Korn, Lyse, violette Kokken
 JG + PF +
 + BAL Gram: Körnchendetritus, stark reduzierte Färbbarkeit, Kokkenschatten

Wirkungsweise: INH wirkt spezifisch auf Mykobakterien. Bei Mikrokokken blockiert INH die Funktionen des Protoplasmas. BAL bewirkt lediglich eine Wachstumsstimulierung.

Literatur: Bei Mykobakterien ist durch INH eine Hemmung der Zellteilung nach vollzogener Teilung der Kernäquivalente festgestellt (286).

Solvoteben — Bayer

= Diaethanolaminsalz der Benzaldehyd-thiosemicarbazon-4-carbonsäure
 pH $\approx$ 8,0

Versuchsansatz: 20%ige Lösung der Originalampullen

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 2,0 γ /ml $\rightarrow$ 40,0 mg/ml in 8 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 10,0 mg/ml, 24^h 20,0 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Kein Schutz feststellbar; im Gegenteil scheint interessanterweise bei 10,0 mg/ml eine Potenzierung der bakteriostatischen Wirkung nach Zusatz von BAL vorzuliegen.

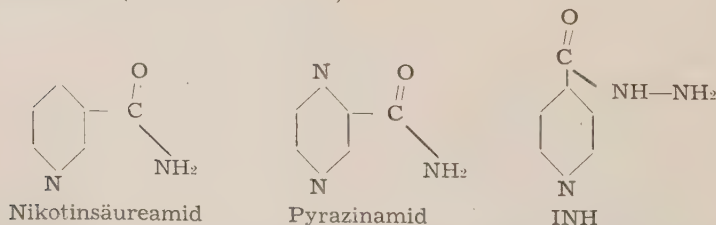
Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 10,0 mg/ml	Gram: Detritus JG + PF +
48 ^h 10,0 mg/ml	Gram: stark gefärbte gramnegative Formen mit punktförmigen und strichförmigen Verdichtungen
4 ^h 20,0 mg/ml	Gram: Lyse, Halbmondform, vergrößerte Ringformen JG + PF + z. T. staubförmig
4 ^h 40,0 mg/ml	Gram: Körnchendetritus, auch intrazellulär JG ganz vereinzelt zartgrüne Kokken 48 ^h JG + normal PF +

Bemerkung: Conteben-Mikropulver (Thiosemicarbazon), wie es zur Einblasung in tuberkulöse Cavernen gebräuchlich ist, konnte wegen seiner geringen Löslichkeit nicht verwendet werden.

Wirkungsweise: Solvoteben blockiert die Funktionen im Protoplasma. Ein Dithiolantagonismus fehlt.

Pyrazinamid (Aldinamid-Lederle)



Versuchsansatz: 5,0 g gelöst in 100,0 ml Aqua dest.

Das schwerlösliche Pulver ist bei 62° C vollständig gelöst. Bei Zimmertemperatur fällt ein Teil der Substanz wieder aus. Die abgelese-

(mehrfach Hemmungen in der Prophase — Anreicherung im Spirem-stadium). Anhäufung von Telophasen. Granulocytäre Zwillings-elemente (Kernteilung ohne Plasmateilung). Bandförmige Kerne (861). Mißbildungen bei Tritonkeimen nach Urethan-Einwirkung (862, 863). Tomotis und Rossi (864) stellten fest, daß die oxydativen Prozesse auch in pleomorphen Formen (nach Urethan-Einwirkung) normal ablaufen, jedoch wird Brenztraubensäure, L-Ketoglutarsäure und Glutaminsäure langsamer als durch normale Formen oxydiert. Die Terminalatmung (Krebszyklus) zeigt verminderte Aktivität.

Colchicin — „Merck“

Versuchsansatz: 0,5 g/5 ccm Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 mg/ml — 10,0 mg/ml in 11 Konzen-trationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 2,0 mg/ml, 18^h 3,0 mg/ml (minimal) 5,0 mg/ml (maxi-mal), 48^h — 72^h — 8 Tage 10,0 mg/ml

Baktericidie: fehlt in den untersuchten Konzentrationsstufen; eine höhere Dosierung ist infolge begrenzter Löslichkeit des Colchicin nicht möglich.

BAL: Kein Schutz nachweisbar.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,1 mg/ml	Gram: „Nukleoidformen“, Kleinformen in Trau-benlagerung J G +
1,0 mg/ml	Gram: „Nukleoidformen“, gramnegative Formen, Körnchen, Stäbchen JG + auffallend kleine intrazelluläre Körnchenformen
2,0 mg/ml	Gram: viele Normalformen in atypischer Lage-rung, Ketten, Einzellagerung, geringere Plasmaschädigung z. T. schlecht färbbarer Detritus, Lyse JG — PF —
10,0 mg/ml	siehe Sonderblatt
4,0 mg/ml	JG — PF —
3,0 mg/ml	JG — PF —
10 Tage 2,0 mg/ml — 10,0 mg/ml	Gram: ausschließlich gramnegative Formen, Semmelformen JG stark reduzierte Färbbarkeit, großes ungefärbtes Zentrum, schmaler grüner Saum PF —

Wirkungsweise: Colchicin blockiert in erster Linie den Zellteilungs- und be-sonders den Kernmechanismus (in bakteriostatischer Konzentra-tion ist kein Kern mehr nachweisbar) Lochkernbildung.

Literatur: Colchicin hat seinen Angriffspunkt in der Metaphase. Reiner Wachstums- und kein Stoffwechsel-Inhibitor. Greift am Stoffwechsel der ATP-Spaltung an und ist demnach ein ausgesprochenes Spindel-gift. Antagonisten des Colchicins: ATP, ATP-ase-Aktivatoren; Syner-gisten: Phloridzin, Sexualhormone, NNR-Hormone, Cortison macht unterschiedliche Dosen wirksam. Colchicin ist ohne Einfluß auf die Dehydrierung von Glukose, Bernsteinsäure, Phenylalanin und Tryp-tophan (143).

Colchicin

Anlage

10,0 mg/ccm	4 ^h	Gram: stärkste Plasmaschädigung, schlechte Färbbarkeit (violett). Großformen mit multiplen dunkelblauen Körnchen intrazellulär. Riesenformen mit gezacktem Rand JG: viele stark ausgefärbte Großformen einige Formen mit dunkelgrünem körnigem Inhalt (vereinzelt) Detritus
+ BAL		Gram: verdämmernde Kleinform ohne intrazelluläre Körnchen JG: leere Membranen, hellgrün
	16 ^h	Gram: viele blaue Körnchen und Kleinstäbchen ohne Plasmabezug (unspezif. ??), vereinzelt große Gram-Kokken mit dickem blauen Rand. Keine Vielkernigkeit, Ringformen, Binukleoidform groß. JG: diffuse Ausfärbung, meist Verdichtungen an zwei verschiedenen Stellen in der Zelle
+ BAL		wie nach 4 ^h JG: schwachgrün
	48 ^h	Gram: Gramnegative große Kokken in normalen Trauben, einzelne mit 1 oder 2 dunkelvioletten Schalen JG: normal oder stark farbverdichtet.
+ BAL		dto.

Nach unseren Untersuchungen an Mikrokokken sowie denen von Sterzl (871) an *E. coli*, Meier (872), sowie Minsavage und De Lamater (873) an *S. typhi* ist es, wenn man bei der Mikroorganismenzelle einen ähnlichen Wirkungsmechanismus annimmt wie bei der höheren organisierten Zelle, und dazu sind wir nach den neuesten Ergebnissen der mikrobiologischen Grundlagenforschung berechtigt, auch auf diesem Wege möglich, einen Teilungszyklus bei Bakterien zu postulieren, wenngleich die exakte Organisation des Spindelapparates noch zweifelhaft ist. Die Ansicht von Leiner (265), nach der Colchicin an Bakterien nicht wirksam sein kann, da die Spindelbildung „wohl fehlt“, ist damit überholt.

Meier (872) findet die Biochemie und Morphologie bei Bakterien unter dem Einfluß von Colchicin unverändert. Auch diese Feststellungen bedürfen, soweit sie die Morphologie betreffen, einer Korrektur. Vergrößerung des Zellvolumens, Verlängerung und Polyploidie sind charakteristische Merkmale (871, 873). Sterzl (871) stellte fest, daß Colchicin, Chloralhydrat und Veratrin bezüglich der morph. Einwirkung auf *E. coli* ähnlich reagieren.

Demecolcin (Colcemid) — Ciba

Substanz F = Desacetylmethylcolchicin

Versuchsansatz: 1 Ampulle = 1,0 mg Colcemid

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,001 mg/ml — 0,3 mg/ml in 7 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,1 mg/ml, 24^h 0,2 mg/ml, 48^h —

Baktericidie: fehlt in den untersuchten Konzentrationsstufen

BAL: entfällt.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,3 mg/ml	Gram: Polymorphie, Polychromasie, Körnchendetritus JG +
24 ^h 0,3 mg/ml	Gram: Gramnegative Einzelkokken mit blauem Korn JG +

Wirkungsweise:

Colcemid ist wirkungsgleich mit Colchicin.

Literatur:

Desacetylmethylcolchicin (Colcemid) ist ein Nebenalkoid aus *Colchicum autumnale*, das von Santavy u. Reichstein 1950 isoliert wurde. Im Hoden der Maus finden sich nach Colcemid-Applikation Riesenzellen mit vakuolisiertem Cytoplasma, sowie Lochkernbildungen. Bei transplantablen Tumoren sind starke Kernschädigungen, Homogenisierung des Chromatingerüsts mit tropfigem Zerfall. Am Tier sind zur Teilungshemmung wesentlich höhere Dosen als von Colchicin erforderlich. Colchicin ist wesentlich toxischer als Colcemid; darin liegt sein therapeutischer Wert (874). Bei der Erythro- und Granulopoese treten pathol. Mitosebilder-Polyploidie, Metaphasenblockierung auf. Keine Vakuolisierung der Ruhekerne. Veränderungen im Cytoplasma wurden im Gegensatz zum Urethan nicht beobachtet (875). Pflanzenmitochondrien sind besonders widerstandsfähig gegen Colchicin (Garragues u. Ryland, zit. n. 875). Auch Mitochondrien in Osteoblastenkulturen sind gegen erheblich stärkere Konzentrationen von Colchicin empfindlich als sie für die Spindelbildung erforderlich sind (Töndury mit Bräm zit. n. 875).

Bei Derivaten des Demecolcins, den Demecolceinamiden, tritt bei längerer Seitenkette am Ring C eine deutliche bakteriostatische Wirkung besonders gegen grampositive Mikroorganismen in Erscheinung (Analogie zu der antibakteriellen Wirksamkeit von langkettig substituierten quaternären Ammoniumsalzen). Andererseits nimmt bei zunehmender Länge der Seitenkette die colchicinartige Wirkung an Fibroblasten ab. Die beiden Aktivitäten scheinen sich somit hinsichtlich einer bestimmten Eigenschaft reziprok zu verhalten (876).

Janusgrün B — Versuch zur Wirkungskompensation durch BAL

0,05 cm³ = 5,0 γ/cm³

Zugabe von jeweils 0,5 cm³ BAL in Abständen von 10 Minuten (1. Zugabe bei Röhrchen 1 sofort beim Versuchsansatz, letzte Zugabe bei Röhrchen 24 nach 3 Stunden 50 Minuten).

Ergebnis:

1. BAL hat eine nicht indifferente Wirkung auf die Morphologie (Auftreten von Riesenformen und z. T. schlechte Färbbarkeit, Plasmenschädigung!)

In den Röhrchen 1—24 finden sich punktförmige Nukleole mit vereinzelt diffuser Ausfärbung, Riesenformen, Ring- und Halbmondform, schlecht färbbare Nukleoidformen. Nach 2^h 50' und 3^h 20' sind „freie“ Nukleole nachweisbar. Gram-Formen.

2. In allen Röhrchen ist nach 24^h starkes Wachstum nachweisbar. Beweis durch Subkultur.
3. Es handelt sich demnach bei der antibakteriellen Potenz des Janusgrün B um eine reine Bakteriostase, die jederzeit durch BAL kompensierbar ist.

	Kontrolle		BAL 0,5 cm ³		BAL 0,1 cm ³		Cystein 1000 mg ⁰ / ₀ 1 cm ³		Glutathion 1000 mg ⁰ / ₀ 1 cm ³	
	4h	24h	4h	24h	4h	24h	4h	24h	4h	24h
0,05 mc ³ = 5,0 γ/cm ³	—	—	++++	++++	++++	++++	+	+	+	+
							wein- rot		rosa	
0,01cm ³ = 1,0 γ/cm ³	++	++++	++++	++++	++++	++++	+	++	++	++
JG +										
Gram: starke Plasmaschädigung mit den üblichen Involutions- formen.										

II. Versuch zur Wirkungskompensation mit SnCl₂ (1⁰/ige Lösung)

JG 5,0 γ/cm ³	Zugabe von 0,5 cm ³ SnCl ₂ sofort	JG +	großblaue Kokken
	Zugabe von 0,5 cm ³ SnCl ₂ nach 40'	JG +	gut ausgefärbter normal (bes. äußerster Rand) Ring
	Zugabe von 0,5 cm ³ SnCl ₂ nach 4h	JG +	normal

Janusgrün (Diazingrün)

Versuchsansatz: 100⁰/ige wäßrige Lösung

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,1 γ/ml — 200,0 γ/ml in 15 Konzen-
trationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4h 2,0 γ/ml, 18h 3,0 γ/ml 48h 6,0 γ/ml

Baktericidie: > 72h 6,0 γ/ml

BAL: Schutz noch bei 200,0 γ/ml!

Mikroskopische Beurteilung:

4h 0,5 γ/ml	Gram: viele gramnegative Formen	JG +	PF +
1,0 γ/ml	Gram: schlecht fräbbarer und punktförmiger Detritus, Ein- zelkokken mit punktförmigen „Nukleoiden“	JG +	PF +
2,0 γ/ml	Gram: Körniger Detritus	JG +	PF +
6,0 γ/ml	Gram: Detritus, starke Plasmaschädigung		
+ BAL	JG	Großformen	Detritus

Wirkungsweise: Janusgrün blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf
Protoplasma und Mitochondrien.

Dithiolantagonismus durch BAL voll wirksam.

Bemerkung: Janusgrün eignet sich ausgezeichnet als Modellversuchsobjekt
bei der experimentellen Darstellung rein bakteriostatischer Prozesse.
Bereits makroskopisch ist an den Farbvarianten der Grad der Re-
duktion zu erkennen. Ein Beispiel mag dies verdeutlichen:

	Wachstum	4h	18h	48h	Grundfarbe der Bouillon nach 48h
6,0 γ/ml	—	—	—	—	grün
5,0 γ/ml	—	—	—	++	rot
4,0 γ/ml	—	—	—	++	rot
3,0 γ/ml	—	—	—	++	gelbrot
2,0 γ/ml	—	—	++	+++	gelb
1,0 γ/ml	+++	+++	+++	+++	gelb

Weiterhin bietet sich die Möglichkeit der intravitalen Anfärbung der einzelnen Mikroorganismen unmittelbar im Test.

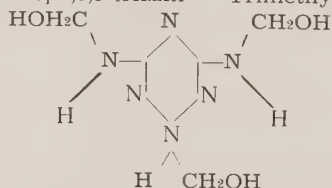
Literatur: Nach Braun (854) sind bei schwangeren Nagern nach Injektion mit Janusgrün Mißbildungen auszulösen. Es kommt dabei zu einer Reduktion des Farbstoffes zur Leukobase und diese senkt die O₂-Aufnahme auf $\frac{1}{10}$ der Norm. Nach W. H. u. M. R. Lewis Amer. J. Anat. Bd. 17—339 — zit. n. Romeis — ist Janusgrün selbst in Verdünnungen von 1:200 000 für die höher organisierte Zelle noch giftig. Die Zellteilung befruchteter Seeigeleier wird bereits bei 5 γ /ml gehemmt (855). Auch Güttes und Schmähl glauben wie wir, allerdings aufgrund von Untersuchungen an anderen Testobjekten, nämlich Seeigelkeimen und Yoshida-Ascites-Carcinom-Zellen, annehmen zu dürfen, das auf Janusgrün, als elektiver Vitalfarbstoff für Mitochondrien bekannt, die zellteilungshemmende Wirkung auf die Beeinflussung von Vorgängen zurückzuführen ist, die ihrerseits an Mitochondrien gebunden sind. Daneben nehmen sie eine Schädigung anderer Zellelemente, z. B. der Chromosomen oder plasmatischer Duplikanten an, denn ähnlich wie Benzochinon, Stilben und Digitonin bewirkt auch Janusgrün eine Verklebung von Seeigelkeimen miteinander. Druckrey vermutet, daß der bi- oder polyfunktionelle Charakter dieser Verbindungen die Ursache der Verklebung ist und nimmt an, daß sie ähnlich wie die Chromosomenverklebungen, die man durch Behandlung mit N-Lost erhält, durch „cross linking“ (857), d. h. durch Brückenbildung der Giftmoleküle zwischen Makromolekülen zustande kommt.

Die Abnormitäten, die sich während der Mitose an den Chromosomen infolge der Einwirkung von Janusgrün manifestierten, werden als Modell für ähnliche Vorgänge an plasmatischen Strukturen (Nukleinsäuren) gesehen. Die Verklebung von Chromosomen nach Einwirkung von Janusgrün beweist jedenfalls, daß diese Verbindung nicht allein über die Beeinflussung von Mitochondrien zellteilungshemmend wirkt, sondern auch andere Duplikanten angreift. (Brückenbildung mit nachfolgender Fragmentierung).

Caelysin — Dr. Fr. Köhler/Alsbach

(früher Cilag 61)

= 2,4,6 Tri [oxymethyl-amino]-1,3,5-triazin = Trimethylolmelamin



Versuchsansatz: Originalampullen zu 10,0 ml = 0,3 g

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,06 mg/ml $\rightarrow$ 12,0 mg/ml in 17 Konzentrationsstufen.

Mikroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,30 mg/ml, 24^h 0,36 mg/ml, 48^h 0,36 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 0,42 mg/ml

BAL: Schutz bei 0,5 mg/ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,06 mg/ml Gram: schwere Plasmaschädigung, reduzierte Färbbarkeit, rote Kokken mit blauen Pünktchen
JG + PF +

0,36 mg/ml	Gram: Riesenformen, Plasmoptyse, Splitter JG + PF +
0,48 mg/ml	Gram: Riesenformen bis zu 15facher Kokkengröße JG + PF +
0,6 mg/ml	Gram: Körniger Zerfall, kleine Halbmonde JG + PF +
+ BAL	Gram: reduzierte Färbbarkeit, schwere Plasmaschädigung JG + (normal)

Wirkungsweise: Trimethylolmelamin (Cealysin), ein sehr wirksames Cyto-
staticum, blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Proto-
plasma, in höheren Konzentrationen auch auf die Mitochondrien.
Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur:

1. Beeinflussung des Ruhekerns mit Zunahme der Pyknosen, der fragmentierten Pyknosen und der Kernfragmente.
2. Störung der Mitose.
3. Zunahme zwei- und mehrkerniger Zellen.

In dem gesamten Erscheinungsbild gleicht Cealysin keinem der üb-
lichen Zellgifte, wie Colchicin, Trypaflavin, Urethan oder N-Lost
(865—870).

Über Wirkung auf Bakterien, Protozoen und Pilze ist nichts be-
kannt. Die Aufnahme des antibakteriellen Spektrums bei Cealysin
ergibt folgendes Bild:

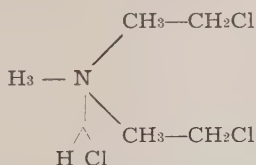
Die Wachstumsgrenze liegt bei

0,30 mg/ml $\pm$ 0,06 mg/ml *S. typhi* suis Typ Kunzendorf, *Micrococcus*
aureus

0,42 mg/ml $\pm$ 0,06 mg/ml *S. typhi* suis Typ Voldagsen, *S. typhi* suis
0,60 mg/ml *L. leichmanii*, *Leukonostok*, *Streptococcus faecalis*, *Sar-*
cina lutea Bac. *subtilis*, *Aerobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*
1,20 mg/ml *Streptococcus durans*, *E. coli*, Bac. *cereus*.

Dichloren — Ciba

= Dichlordiäthylmethylamin(Methyl-bis- β -chloraethylamin-hydrochlorid)



Versuchsansatz: Trockenampulle mit 0,010 g — Herstellung wäßriger
Lösungen

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,1 mg/ml — 2,0 mg/ml in 4 Konzen-
trationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,1 mg/ml, 24^h 1,0 mg/ml, 48^h 1,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 2,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 2,0 mg/ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,1 mg/ml Gram: schlecht färbbarer fädiger und punktförmiger Detri-
tus mit einzelnen „Nukleoidformen“

JG + PF +

0,5 mg/ml JG + PF +

1,0 mg/ml JG — PF —

+ BAL Gram: rotes Plasma mit blauem Korn, vereinzelt Kokken mit blauem Ring und rotem Zentrum, verminderte Färbbarkeit

2,0 mg/ml Gram: Kleinformen, Detritus, Lyse JG — PF —

+ BAL — 8 Tage Gram: starke Plasmaschädigung, netzartige Struktur

Wirkungsweise: Dichloren blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma und in höheren Konzentrationen auch auf die Mitochondrien. Dithiolantagonismus durch BAL.

2,5-Bis-Äthylenimino-hydrochinon (inneres Salz des . . .)

Ciba Nr. 15 688

Versuchsansatz: Substanz ist in Wasser schwer löslich.

1. Lösungsversuch der gesamten zur Verfügung stehenden Substanzmenge, 0,875 g lösen sich in ca. 70,0 ml n/6 NaOH, bei Säurezusatz (Einstellung auf pH 7,5 fällt die Substanz sofort in braunschwarzen großen Flocken aus.

2. Einstellung auf pH 7,5.

3. Filtration (Rückwaage des Filtrerrückstandes 0,344 g).

Das so gewonnene Filtrat wurde auf seine antibakteriellen Potenzen untersucht.

I. Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: (nur im Approximativwert möglich!)
≈ 0,03 mg/ml — ≈ 0,6 mg/ml in 6 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h ≈ 0,15 mg/ml, 16^h ≈ 0,3 mg/ml, 24^h 0,3 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Kein Schutz feststellbar.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h ≈ 0,03 mg/ml Gram: Grampositiver Kokkendetritus, JG + PF +

≈ 0,3 mg/ml Gram: Kleine gramnegative Kokken
JG + körnig, irregulär

≈ 0,6 mg/ml Gram: starke Plasmaschädigung, schlecht färbbarer Detritus

48^h Gram: Gramnegative Formen, „Nukleoidform“, Detritus
JG + z. T. sehr groß

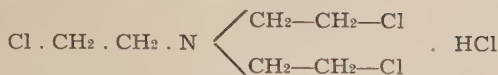
II. Der Filtrerrückstand (0,344 g) wurde in 40 ml n/6 NaOH unter Erwärmen gelöst und auf pH 7,5 (mit 1n H₂SO₄) eingestellt. Wiederum flockte ein Teil braunschwarz aus. Das Filtrat hatte eine geringere, aber deutlich (bei 1,0 und 2,0 ml-Zusatz) antibakterielle Aktivität. Bei Zusatz von 3,0 ml sistiert das Wachstum nach 4^h vollständig, nach 48^h ergibt sich noch eine deutliche Bakteriostase; von 5,0 ml Filtrat ein absoluter Wachstumstop noch nach 96^h. BAL ist ohne jeden kompensatorischen Effekt.

Wirkungsweise: Das antimitotische und tumorhemmende (877) Ciba 15 688 blockiert in erster Linie den Protoplasmastoffwechsel und auch die Mitochondrienfunktion.

Weitere Versuche konnten nicht angestellt werden, da keine Versuchssubstanz mehr zur Verfügung stand. Ciba 15 688 befindet sich noch im Prüfungsstadium und ist nicht im Handel.

Stickstofflost (Sinalost-Nordmark)

= Trichlortriäthylamin-chlorhydrat



Versuchsansatz: Ampulle mit 5 mg Sinalost (+ 14 mg Zitronensäure)

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,0625 mg/ml — 2,0 mg/ml in 6 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,125 mg/ml, 24^h 0,125 mg/ml

Baktericidie: 72^h 0,25 mg/ml

BAL: Schutz bei 1,0 mg/ml, kein Schutz bei 2,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 0,25 mg/ml Gram: Detritus, einzelne grampositive Kleinkokken
PF — JG körniger Detritus

+ BAL: Gram: Gramnegative Formen
JG vereinzelt Normalformen, sonst körniger Detritus.

Wirkungsweise: N-Lost blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. In hoher Konzentration ist BAL nicht in der Lage diese Wirkung zu kompensieren. Es besteht in diesem Fall eine direkte kerntoxische Wirkung.

Literatur: Trichlortriäthylamin hemmt die Oxydation von Brenztraubensäure und 1-Aminosäuren (897). Diese Verbindung entfaltet eine Baktericide Wirkung (B. coli 100 mg/1000 ml, Streptococcus haemol. 450 mg/1000 ml, Staphylococcus aureus (209P) 800 mg/1000 ml, Pseudomonas pyocyanea 350 mg/1000 ml) und eine virucide Wirkung (898, 899, 900).

Die cytotoxische Wirkung der Mustarde bewirken in genügend hoher Konzentration eine sofortige Koagulation (und Abtötung ohne Formveränderung) lebender Zellen (Schwefellost).

Stickstofflost verändert die Zellform, da es die Zellen nicht sofort fixiert. Niedrige Konzentrationen bewirken einen langsamen Zelltod unter Auflösung des Cytoplasmas mit starker Veränderung des Zellumrisses und der Chromosomen. In subletalen Konzentrationen zeigen die Zellen abnorme Mitosefiguren (901).

Alle Teilungsphasen außer der Prophase werden bei einer Konzentration von 0,1 mg/0% pathologisch verändert. Versuche mit Hühnerherzfibroblasten (Schaermeier R. zit. bei Lindemann (902)).

Letale Dosis bei Gewebekulturen 200 γ/ml. In hoher Dosis: Abtötung der Zellen, in niedrigeren Dosen: Wachstumshemmung. Die Empfindlichkeit der Gewebe ist von ihrer Proliferationsaktivität abhängig. Die cytomorphologische Wirkung der Mustarde ähnelt weitgehend den Veränderungen, die durch Röntgenstrahlen hervorgerufen werden (903).

1. Primäreffekt mit Chromosomenpyknosen, Chromosomenbrüchen- und restitutionen, Centromerschäden, Blockade der frühen Metaphase-Mitoseblock.

2. Sekundäreffekt: Schädigung des Spindelapparates.

Genauer Wirkungsmechanismus noch ungeklärt.

Enzyminaktivierungstheorie erschüttert, seitdem sich ergeben hat, daß man bei Hefezellen Veränderungen der mitotischen Aktivität erzeugen kann ohne Wirkung auf Glykolyse und Atmung (904).

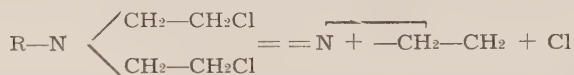
Kerntoxische Wirkung. Schwellendosen greifen an der Chromosomenstruktur an, ohne andere Zellbestandteile zu beeinflussen. Ob diese Chromosomenveränderungen jedoch durch eine direkte chemische Einwirkung oder durch strukturelle Schädigungen infolge Inaktivierung von Kernenzymen verursacht werden, ist nicht geklärt. In neuester Zeit glaubt man, den Wirkungsmechanismus der Lost-Derivate auf Grund des bifunktionellen Moleküls als sog. Cross linking Verbindung erklären zu können.

Senfgas (Dichlordiäthylsulfid) wurde ursprünglich als Kampfstoff verwendet (Gelbkreuz, Yperit, Lost, Mustard). Besondere Wirkung auf stark proliferierende Gewebe (905, 904).

Ersetzt man den S im Senfgas durch ein N-Atom, so kommt man zu einer weniger toxischen Substanz, dem Stickstofflost.

Auf der Haut haben diese Substanzen Kampfstoffwirkung.

Für die Wirkung des N-Losts scheint seine Fähigkeit, ein zyklisches Ammoniumkation zu bilden, wichtig zu sein.



Diese quaternäre Ammoniumverbindung soll leicht mit funktionell wichtigen Gruppen von Stoffwechselermenten wie den SH-Carboxyl- und Aminogruppen reagieren. Es sind direkte kerntoxische Einflüsse mit Hemmung der Mitose und Mitosestörungen nachweisbar (901).

Fell und Allsopp studierten die Wirkung von N-Lost auf lebende Zellen in vitro. Flüssiges Senfgas bringt lebende Zellen sofort zur Koagulation, ohne ihre Form stark zu verändern. Niedrige Konzentrationen führen zu einem langsamen Tod der Zellen mit Zersetzung des Zytoplasmas und Entstellung der Zell- und Chromosomenformen. In subletalen N-Lost-Konzentrationen zeigen Zellen abnorme Mitosefiguren. Spitz (zit. nach 906) beobachtete fettige Degeneration der Zellen und Anschwellen der Zellkerne unter Verlust der Kernstruktur. Häufige vielkernige Riesenzellen. Beim N-Lost ist die Hemmung der Kernteilungsintensität stärker als beim Urethan. Bakteriostatische Wirkung des N-Losts auf *M. tbc.* (907). Lost hat hohe Affinität zu SH-Blockade der Redoxfunktion (6,13).

Mitomen — Asta

= Methyl-bis-(β-chloräthyl)-amin-N-oxyd-hydrochlorid
(N-oxyd-Lost)

identisch mit dem Präparat Nitromin der Firma Takeda, Osaka (Japan)

Versuchsansatz: Ampulle zu 50 mg/5 ml Aqua destillata.

Gepüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,001 mg/ml — 2,0 mg/ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 1,0 mg/ml, 48^h 2,0 mg/ml

Baktericidie: > 72^h 2,0 mg/ml

BAL: Schutz bei 2,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 1,0 mg/ml

Gram: Färbbarkeit deutlich reduziert, kleine gramnegative Kokken mit z. T. wolkigen, violetten Einlagerungen Lyse allgemein vorherrschend.
JG vielfach 2 farbverdichtete Zonen im Protoplasma PF +

Wirkungsweise: N-oxyd-Lost (Mitomen) blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma.

Actinomycin — C (Sanamycin — Bayer)

Antibiotikum aus *Micromonospora globosa*

Versuchsansatz: 200 γ gelöst in 5 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,004 γ /ml — 8,0 γ /ml in 11 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,4 γ /ml, 24^h 1,6 γ /ml

Baktericidie: > 72^h 4,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 4,0 γ /ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,4 γ /ml	Gram: starke Plasmaschädigung, Semmelformen JG + PF +
1,2 γ /ml	Gram: Splitter, Einzelkokken JG + PF +
1,6 γ /ml	Gram: Großformen, verminderte Färbbarkeit, Lyse JG + viel Detritus, Ringformen
4,0 γ /ml	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, Zellvergrößerung, kleine Halbmonde JG + (nur sehr wenige Normalformen) PF +
8,0 γ /ml	Gram: Lyse PF + JG —

Wirkungsweise: Actinomycin C blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma und in höherer Konzentration auch auf die Mitochondrien.

Literatur: Porro und Mitarbeiter (878, 879) stellten bei Untersuchungen der Zellatmung unter Sanamycin fest, daß bei Milzgewebe eine Atmungsverminderung um 19,5% eintritt (α -Ketoglutarat zu 25,6%, Citrat 14,5%, Succinat 16,8%, Acetat 18,7%, Pyruvat 15,2%, Malat 2,0%). Bei Nierengewebe wird nur der α -Ketoglutarat-Verbrauch teilweise gehemmt.

Penicillin

Versuchsansatz: Na-salz (Schering) 5000 E/2 ml Aqua bidest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,025 E/ml — 250 E/ml in 8 Konzentrationsstufen

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,025 E/ml, 24^h 2,5 E/ml, 48^h 12,5 E/ml

Baktericidie: > 72^h 12,5 E/ml

BAL: Schutz bei 250,0 E/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,025 E/ml	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, Großformen, Halbmonde JG + wolkiges Plasma, nur vereinzelt normale Formen PF +
24 ^h	JG + normal PF +
4 ^h 1,25 E/ml	JG schlecht färbbar, Körnchenform
4 ^h 25,0 E/ml	JG zentral angedeutetes Korn PF — 24 ^h : JG: Detritus + BAL JG + (Kleinform)
4 ^h 250,0 E/ml	Gram: Riesenformen, Halbmonde, Vakuolen, Körnchen, Siegelringe JG: schlecht färbbarer Kockendetritus ohne deutliches Korn PF — auch nach 24 ^h + BAL Gram: Detritus, gramnegative Semmelform mit bipolarer Verdichtung

JG schlecht färbbare Kokken mit staubförmigen Einschlüssen.

Wirkungsweise: Penicillin blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma und besonders auch auf die Mitochondrien.

Streptomycin- und Dihydrostreptomycin-Sulfat

Versuchsansatz: je 10,0 mg gelöst in je 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ /ml — 100,0 γ /ml in je 9 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 5,0 γ /ml, 24^h 10,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h > 50,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 100,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 1,0 γ /ml	Gram: normale Kokkenverbände mit blauem Kranz und rotem Zentrum, z. T. stark verminderte Färbbarkeit, vereinzelt Großformen ohne Innenstruktur, rote Kokken mit blauem Punkt. Pünktchen-Detritus JG + PF + Vakuolen und Schaumstruktur, Ringe, Halbmonde
5,0 γ /ml	Gram: Semmelform, blauer Kranz, rotes Zentrum, Detritus Körnchen, Verklumpungen der Kokken JG + PF +
50,0 γ /ml	Gram: Kleinformen, starke Plasmaschädigung JG — PF + vereinzelt in Halbmondform von körnigem Zerfall
100,0 γ /ml	Gram: Groß- und Riesenformen, Ringformen ohne Innenstruktur, vereinzelt Kommaform, z. T. Großform mit wolkiger Innenstruktur, reduzierte Färbbarkeit JG — PF —
+ BAL	Gram: Detritus, Körnchen, maximal reduzierte Färbbarkeit JG +

Wirkungsweise: Streptomycin und Dihydrostreptomycin sind wirkungsgleich. Sie blockieren SH-Gruppen und wirken primär auf das Protoplasma und auf die Mitochondrien. Bei hohen Konzentrationen kommt es zu Veränderungen am Kern und schließlich zum Kernzerfall.

Dithiolantagonismus durch BAL.

Chloramphenicol

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,001 γ /ml — 100 γ /ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 γ /ml, 24^h 0,1 γ /ml, 48^h 1,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h 5,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 100,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,001 γ /ml	Gram: einzelne Kokken gegenüber der Norm vergrößert sonst normal JG + PF +
-----------------------------------	---

1,0 γ /ml	Gram: Kleine und große Riesenformen, z. T. mit körnigem Zerfall, unipolare Verdichtungen JG + PF +
3,0 γ /ml	Gram: massenhaft kleine Kokkenschatten mit massendichten roten Zonen JG + PF +
4,0 γ /ml	Gram: Lyse, Einzelformen
5,0 γ /ml	JG + (sehr wenige)
50,0 γ /ml — 100,0 γ /ml	

Gram: Lyse aus Großformen PF —
JG: ganz vereinzelt stark ausgefärbte Einzelkokken und Diplokokken

+ BAL Gram: starke Plasmaschädigung, gramnegative Formen „Nukleoidformen“.

Wirkungsweise: Chloramphenicol blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma und auf die Mitochondrien.

Literatur: Kleine Mengen verhindern die Bakterienkernteilung, größere Dosen behindern die Zellteilung vollständig (127).

Chlortetracyclin (Aureomycin-Lederle)

Tetracycline

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

bzw. Aureomycin-Stammlösung. 1,0 ml = 500,0 γ

5,0 ml der Stammlösung + 250,0 ml Phosphatpuffer = 10,0 γ /ml

2,0 ml der Pufferverdünnung + 200,0 ml Phosphatpuffer = 0,1 γ /ml

0,1 → 0,9 ml der 2. Verdünnung auffüllen auf jeweils 1,0 ml Puffer
+ 9,0 ml beimpfte Bouillon = 0,01 — 0,09 γ /ml

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ /ml → 200,0 γ /ml in 24 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,01 γ /ml, 24^h 5,0 γ /ml 48^h 10,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h — 8 Tage 200,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 200,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

I. Ablesung nach 4 Stunden

0,01 γ /ml Gram: Stäbchen mit blauen Farbverdichtungen an den Polen bzw. Farbsplitter

JG +
PF +

0,02 γ /ml Gram: Siegelringform

0,03 γ /ml Gram: Deutlich verminderte Färbbarkeit mit Einzelkokken, Diplokokken und Kleinformen

0,04 γ /ml Gram: Trauben, Fäden, große Körper

II. Ablesung nach 2 × 4 Stunden (Überimpfung nach 4 Std. in frisches Aureomycinmilieu)

Gram: Riesenformen (4—20 × Kockengröße), gramnegative Formen. Schaumstruktur im Außenbezirk, Vakuolen, Entmischung, lymphoide, monocytoide, metamyelocyten-ähnliche Konfigurationen

Gram: Gramnegative Formen

Gram: Kleinkokken in Staubform

Gram: Körnchen, kleine monocytäre Form

0,05 γ /ml	Gram: Fadenbildung, Zellen mit blauem Mantel und kleinem roten Zentrum JG + Groß- und Halbform, Bipolarform, starke Ausfärbung	Gram: Ringformen
0,06 γ /ml	Gram: Deutlich verminderte Färbbarkeit, Zellen mit blauem Mantel und kleinem roten Zentrum JG + PF +	Gram: Ring- und Schichtformen (blaurote Außenzone, farblose Grenzzone, karmine Innenzone)
0,07 γ /ml	Gram: Anisocytose, viele Kleinformen „Gänseblümchen“ (blaue Pünktchen im roten Kokkenplasma) JG + PF +	Gram: reichl. Detritus aus zerfallenden Großformen, wenige Riesenformen, die gut färbbar geblieben sind, nur noch ganz wenige Normalformen
0,08 γ /ml	Gram: Körnchenketten, Lanzettierung JG + PF +	Gram: schlecht färbbarer Detritus
0,09 γ /ml	Gram: deutlich vermehrt gramnegative Varianten JG + PF +	Gram: Schwell- und Semmelkokken
0,1 γ /ml	Gram: mehr Kleinformen mit geringer Färbbarkeit JG + PF +	Gram: Keine normalen Formen, Detritus-Körnchen, Lyse, vereinzelt gramnegative Haufen
0,2 γ /ml	Gram: Riesen- und Zwergformen JG + PF +	
0,3 γ /ml	Gram: Fadenbildung, deutliche Degeneration, Riesenformen, Körnchenketten JG + PF +	
0,4 γ /ml	Gram: „angenagte“ Riesenformen, deutliche Vakuolisierung, Bakterientrümmern JG + PF +	
0,5 γ /ml	Gram: Färbbarkeit erheblich reduziert, Lysierscheinungen, nur selten blaue Riesenkokken und rote Riesenzellen mit zentraler Aufhellung JG + PF +	
1,0 γ /ml	JG + PF +	
5,0 γ /ml	JG + PF +	
50,0 γ /ml	JG + schlecht färbbar, staubförmig. PF +	
100,0 γ /ml	JG + schlecht färbbar, staubförmig. PF +	
24 ^h 10,0 γ /ml	JG + periphere rippenartige Verdichtungen, PF +	
100,0 γ /ml	JG + Polymorphie PF +	
200,0 γ /ml	JG + Halbmond, schlecht färbbar, PF + strukturell verändert.	

Oxytetracyclin

(Terramycin — Pfizer)

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ /ml $\rightarrow$ 200,0 γ /ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 γ /ml, 24^h 1,0 γ /ml, 48^h 5,0 γ /ml (minimal) – 10,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h — 8 Tage 200,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 200,0 γ /ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,01 γ /ml	Gram: schlechte Färbbarkeit, wolkige Innenstruktur der nur geringgradig vergrößerten Kokken. Unipolar- und Bipolar-Formen. JG + PF +
	0,5 γ /ml	Gram: schlecht färbbarer Detritus, Unipolarformen JG + PF +
	1,0 γ /ml	Gram: Körnchen, Schwellformen, daneben wenig Normalformen. 24 ^h : massenhaft kleine Siegelringe
	5,0 γ /ml	Gram: dto. 24 ^h : Riesenzellen mit Vakuolen, Schaumstruktur, Siegelringe, deutlich verminderte Färbbarkeit
	200,0 γ /ml	Gram: Splitter, Ringformen-Detritus, keine normalen Kokken, gramnegativer Detritus, Siegelringe JG + PF + 24 ^h : Lyse

Tetracyclin

(Hostacyclin — Hoechst, Achromycin — Lederle, Tetracyn — Pfizer)

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ /ml $\rightarrow$ 100,0 γ /ml in 9 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 γ /ml, 24^h 5,0 γ /ml 48^h 10,0 γ /ml

Baktericidie: fehlt bei den untersuchten Konzentrationen, siehe bei Chlortetracyclin

BAL: Schutz bei 100,0 γ /ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,01 γ /ml	Gram: normale Kokkenausbildung, daneben nicht selten schlecht färbbare vergrößerte (bis 5 $\times$) Kokken mit punktförmigen, stärker färbbaren Einschlüssen und Vakuolen JG + PF +
	0,05 γ /ml	Gram: Riesenformen JG + PF +
	0,1 γ /ml	Gram: Körnchenformen JG + PF +
	5,0 γ /ml	Gram: Riesenzellen, Halbmonde, Siegelringe, Körnchenplasmoptyse aus maximal vergrößerten Zellen JG + PF +
	10,0 γ /ml	Gram: Zellvergrößerung, schlechte Färbbarkeit, Schaumstrukturen, ausgefrante Ränder, uni- und bipolare Formen JG + PF +
	50,0 γ /ml	Gram: Lysis, Bakterienschatten

100,0 γ /ml Gram: Lysisformen, schlechte Färbarkeit, wolkige
Innenstruktur, Bipolarform
JG + PF +

Wirkungsweise: Die Tetracycline (Chlortetracyclin, Oxytetracyclin und Tetracyclin sind wirkungsgleich. Sie blockieren SH-Gruppen und wirken primär auf das Plasma, Kern und Mitochondrien werden in ihrer Funktion nur unwesentlich beeinflusst.

Quantitativ ergeben sich bei den Tetracyclinen signifikante Unterschiede (882).

Bacitracin

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 1,0 γ /ml $\rightarrow$ 100,0 γ /ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 3,0 γ /ml, 18^h 10,0 γ /ml, 48^h 100,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h > 100,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 100,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4^h 2,0 γ /ml Gram: stark reduzierte Färbarkeit, Bipolarform,
Splitter, Halbmonde
JG + PF +

3,0 γ /ml Gram: dto., Körnchendetritus
JG + PF $\rightarrow$

100,0 γ /ml Gram: Lyse, schlecht färbbarer Detritus, Großfor-
men, Bipolarform, Stäbchenform
JG + Halbmonde, Bipolarform PF +

+ BAL Gram: Halbmonde, Siegelringe, Körnchen
JG + Körnchen

18^h — 48^h 100,0 γ /ml Gram: Lyse.

Wirkungsweise: Bacitracin blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. Bei hohen Konzentrationen kommt es auch zu strukturellen Veränderungen an den Mitochondrien.

Neomycin

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 1,0 γ / ml $\rightarrow$ 100,0 γ /ml in 8 Konzen-
trationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 1,0 γ /ml, 18^h 5,0 γ /ml, 48^h 5,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h > 100,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 100,0 γ /ml.

Mikroskopische Beurteilung:

4^h u. 18^h 1,0 γ /ml Gram: Lyse, stark reduzierte Färbarkeit „Mono-
nukleoid“-Formen fast ohne Plasma

JG + PF +

2,0 γ /ml Gram: Halbmonde, Ringe

JG + PF +

5,0 γ /ml Gram: Splitter, „freie“ Halbmonde und „freie Nukle-
oide“ (ohne Plasmabezug)

48^h Bipolarformen, Unipolarform, Halbmonde
JG + PF +

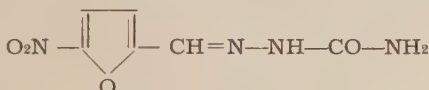
100,0 γ /ml Gram: Lyse, schlecht färbbarer Detritus
 48^h Lyse, Körnchen
 JG + Makroform, Flongierung, Ringform
 + BAL Gram: einzelne normale Einzel- und Diplokokken

Wirkungsweise: Neomycin blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. Bei hohen Konzentrationen kommt es auch zu strukturellen Veränderungen an den Mitochondrien.

Literatur: 1 Waksman-Einheit entspricht 3,3 γ Neomycin-Base.
 1 mg des reinen handelsüblichen Neomycin-sulfates enthält 200 Waksman-Einheiten (383).

Furacin

= 5-Nitro-2-furaldehyd-semicarbazon



Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua dest.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,05 γ /ml $\rightarrow$ 200 γ /ml in 16 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 30,0 γ /ml, 24^h 40,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h > 200,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 200,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 7,0 γ /ml	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, Semmelformen, wenige kleine Siegelringe. JG + PF +
8,0 γ /ml	Gram: Riesenformen JG + PF +
40,0 γ /ml	JG +
200,0 γ /ml	Gram: stark verminderte Färbbarkeit, kleine Formen mit zentralem dunklen Punkt.
	JG — PF +
100,0 γ /ml	JG — graugrüner Detritus PF +
200,0 γ /ml	JG + massiv ausgefärbte, große Formen
+ BAL	

Wirkungsweise: Furacin, ein Antibiotikum aus der Haferhülse, blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma und die Mitochondrien.

Literatur: Furacin, p-Chloromercuribenzoat und trivalente As-Verbindungen schädigen die bakteriellen Dehydrasen durch Blockierung der SH-Gruppen (880). Furacin hemmt die aerobe Verwertung von Brenztraubensäure (881).

Erythromycin (Erycin-Schering)

Versuchsansatz: 50,0 mg gelöst in 10,0 mg Aqua destillata

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,05 γ /ml — 500,0 γ /ml in 6 Konzentrationsstufen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 γ /ml

Baktericidie:

BAL: Schutz bei 500,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,1 γ /ml	Gram: deutlich reduzierte Färbbarkeit, wolkiges Plasma JG + PF +
	500,0 γ /ml	Gram: Lyse, Detritus, große Halbmondformen JG + PF +

Wirkungsweise: Erythromycin blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. Bei hohen Konzentrationen kommt es zu Funktionsstörungen an den Mitochondrien.

Magnamycin — Pfizer

Versuchsansatz: 10,0 mg gelöst in 10,0 ml Aqua destillata

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,01 γ /ml — 200 γ /ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,05 γ /ml, 24^h 0,5 γ /ml

Baktericidie:

BAL: Schutz bei 200,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,05 γ /ml	Gram: vergrößerte Lysisformen, stark reduzierte Färbbarkeit, Ringe in Kleinform JG + PF +
	1,0 γ /ml	Gram: Stäbchen, Splitter, Körnchen JG — PF +
	100,0 γ /ml	Gram: Verminderte Färbbarkeit. Bipolarformen JG — PF —
	200,0 γ /ml	Gram: Gramnegativer Detritus, einzelne Schaumzellen mit randständigen Verdichtungen JG — PF selten und einzeln.

Wirkungsweise: Magnamycin blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf das Protoplasma. Bei hohen Konzentrationen kommt es zu Schädigungen an den Mitochondrien und am Kern.

Tyrothricin

Lösungsvorschrift nach Fenner (896)

Bis 1 mg/ml in 96%igem Alkohol; von 1 mg/ml — 100 γ /ml in einem Lösungsgemisch (Alkohol: Propylenglykol: Wasser = 44 : 44 : 12). Da Vorversuche ergeben hatten, daß dieses Lösungsgemisch 1 : 10 mit Nährlösung verdünnt, das Wachstum von Keimen hemmte, 1 : 20 dagegen nicht mehr, wurde für die Tyrothricin-Verdünnung von 100 γ /ml ab das Lösungsgemisch mit Wasser 1 : 1 weiter verdünnt, ohne daß Tyrothricin dabei ausfiel.

Hemmdosis bei Streptococcus H 69 D 5 0,1 γ /ml

Tetanus-Toxin bleibt unbeeinflusst (161).

Versuchsansatz: 1,0 ml = 200

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,02 γ /ml — 400 γ /ml

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,2 γ /ml, 24^h 2,0 γ /ml

Baktericidie: > 72^h 20,0 γ /ml

BAL: Schutz bei 10,0 γ /ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h	0,1 γ /ml	Gram: viele gramnegative Formen JG + PF +
----------------	------------------	--

Die Aufnahme des antibakteriellen Spektrums bei ACN ergibt folgendes Bild
(Charge 12 — nicht hoch gereinigt!)

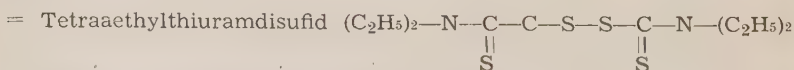
Bakteriostase bei	4 ^h	24 ^h
Micro C var. aureus haemol.	0,25 mg/ml — minimal	2,5 mg/ml (ab 0,05 mg/ml Wachstum sicher unbeeinflusst) absolut 1,0 mg/ml
Micro C var. albus	2,0 mg/ml — 'deutlich	2,5 mg/ml absolut
E. Coli	0,5 mg/ml — minimal	2,0 mg/ml deutlich
Proteus vulgaris	1,5 mg/ml	1,0 mg/ml — 1,5 mg/ml minimal deutlich
Pseudomonas pyocyan.		1,5 mg/ml — 2,0 mg/ml minimal deutlich
Bac. cereus	1,0 mg/ml — 'deutlich	2,0 mg/ml absolut
Aerobacter aerogenes	2,0 mg/ml deutlich	1,5 mg/ml deutlich
E. freundii	1,0 mg/ml — minimal	2,0 mg/ml stark
B. fluorescens	0,5 mg/ml	1,0 mg/ml — 2,5 mg/ml minimal absolut
L. arabinosus	0,5 mg/ml — 'stark	1,5 mg/ml absolut
Leuconostoc	0,5 mg/ml 'absolut	2,0 mg/ml — stark absolut
Strepto C faecalis	0,5 mg/ml absolut	1,0 mg/ml — 2,0 mg/ml minimal stark
Bact. subtilis	0,5 mg/ml — 'stark	1,0 mg/ml absolut

Bemerkung: Allgemein fällt auf, daß die Wachstumshemmungen (ein baktericider Effekt wurde bei keinem der untersuchten Stämme und bei keiner Konzentrationsstufe von ACN-12a beobachtet) vorwiegend auf den aeroben Bereich der Flüssigkeitssäule im Teströhrchen beschränkt sind. Der anaerobe Sektor ist vielfach dicht mit Keimen bewachsen.

Morphologisch finden sich nach ACN-Einwirkung bei gramnegativen Kokken Körnchendetritus, Polymorphie und Anisocytose. Bei E. coli zeigt sich Neigung zu Fadenbildung, Körnchendetritus, Lang-Stäbchen und Stäbchenkettchen (besonders nach 48^h). Diese Befunde sprechen für eine Zellteilungshemmung unter ACN.

Sobald größere Mengen hochgereinigter Wirksubstanz zur Verfügung stehen, werden die Untersuchungen mit ACN fortgesetzt.

Antabus — Tosse



wasserunlöslich, gut löslich in organischen Lösungen

Versuchsansatz: 1,0 g/50 ccm Aceton

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,2 mg/ml — 4,0 mg/ml in 7 Konzentrationsstufen.

Bemerkung: Der Aceton-Leerversuch ergab ab 0,5 ml + 8,5 ml Nährbouillon normales Wachstum von *Micrococcus aureus*. Bei 1,0 ml und 2,0 ml Aceton ist eine deutliche Wachstumshemmung nachzuweisen.

Makroskopische Hemmwertermittlung:

Bakteriostase: 4^h 0,2 mg/ml, 24^h 0,6 mg/ml, 48^h 0,8 mg/ml

72^h 1,0 mg/ml, 8 Tage 4,0 mg/ml

Baktericidie: fehlt

BAL: Schutz bei 4,0 mg/ml

Mikroskopische Beurteilung:

4 ^h 0,2 mg/ml	Gram: stark reduzierte Färbbarkeit, Detritus, vereinzelt zentral dunkelblaues Korn JG + PF +
0,8 mg/ml	Gram: dto., Großformen mit Halbmonden JG + PF + (einzelne schlecht färbbare Normalformen)
24 ^h	Gram: JG + Klein- und Großformen, Polymorphie „Nukleoidform“
72 ^h 4,0 mg/ml — 8 Tage	Gram: Körnchendetritus, vereinzelt normale Trauben, einzelne Formen vergrößert und stark ausgefärbt JG + PF +
24 ^h + BAL	Gram: reduzierte Färbbarkeit, Großformen, Polymorphie, Halbmondform JG + Detritus, viele kleine Körnchenformen PF +

Wirkungsweise: Antabus blockiert SH-Gruppen und wirkt primär auf Protoplasma und Mitochondrien. Dithiolantagonismus durch BAL.

Literatur: Antabus dient in der Humanmedizin zur Behandlung des Präalcoholismus und chron. Alcoholismus. Infolge des Anstieges des Acetaldehydspiegels im Blut kommt es zu unangenehmen Intoxikationserscheinungen (859, 860).

1. Antabus hemmt die Xanthinoxydase der Leber (nicht der Milch) — bezüglich der Oxydation des Aldehyds als auch bezüglich der Oxydation von Xanthin (Richert D. A. — Vonderlinde R. — Westerfeld W. W.).
2. Hemmung der Aldehyd-Dehydrase — Hemmung läßt sich durch SH-Glutathion aufheben. Vermutlich wirkt Antabus durch Verdrängung der Coenzyme von den Stellen der Apoenzyme, an die sie gebunden sind (Graham D.).
3. Im intermediären Stoffwechsel wird die Verbindung reversibel im Sinne der Synthese abgebaut, es kommt zur Bildung des Natriumdiaethylthiocarbamat, das als empfindliches Kupferreagens bekannt ist (persönl. Mittlg. Tosse 4. 10. 55).

Die Bedeutung der SH-Gruppen im bakteriellen Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung ihres Antagonismus zu einigen Chemotherapeutika und Antibiotika

De Rey-Pailhade hat als erster Forscher das Vorkommen S-haltiger reduzierender Substanzen im Gewebe in ihrer Bedeutung für biologische Oxydationen erkannt. Erst durch Heffter (801) fanden jedoch 1908, 20 Jahre später, seine Arbeiten eine gebührende Anerkennung. Nach Rapkine (810) wird die Zellteilung im Vergleich zur Kernteilung und zum Plasmawuchs in: besonders starkem Maße durch SH-haltige Enzyme bewirkt.

SH-Gruppen spielen auch im bakteriellen Stoffwechsel bei Redoxprozessen eine entscheidende Rolle. SH-Gruppen aktivieren ganz allgemein fermentative Prozesse sowohl in der makroorganismischen wie in der mikroorganismischen Zelle (14, 18, 44, 58, 61, 64, 65, 139, 174, 178, 186, 191, 210, 225, 246, 280, 413) und üben eine Strahlenschutzwirkung aus (222, 223, 437). Besonders die Fermente, die im Plasma der Zelle und in den Mitochondrien lokalisiert sind, unterliegen einer Stimulierung durch SH-Gruppen. So aktivieren SH-Gruppen bei kernlosen Erythrocyten das Pyridinnukleotid im Zusammenhang mit der oxydativen Phosphorylierung. Die SH-Bestimmung in Bakterien kann mit der Feigl'schen Jodazid-Methode (215) erfolgen. Die entwickelte N_2 -Menge ist dem SH-Gehalt in der Lösung proportional.

Zahlreiche Chemotherapeutika und Antibiotika sowie Fermentgifte reagieren mit SH-Gruppen (190), setzen dadurch eine Redoxblockade und wirken so zellteilungshemmend, bakteriostatisch. Großenteils sind diese Reaktionen reversibel, als Antagonisten sind SH-Gruppen tragende Verbindungen wie Cystein, Glutathion (34, 117) — Glutathion wird durch Bakterienextrakte synthetisiert (39, 826) — und Dimerkaptopropanol (BAL) zu nennen. Glutathion hat allgemein eine wachstumsstimulierende Wirkung (66), es soll das RES aktivieren (194, 195), seine Synthese in der Leber wird durch ATP beschleunigt (69).

Reaktionen mit SH-Gruppen gehen ein:

1. Alle Antibiotika vom Typ ungesättigter Carbonyle und Laktone, wie Penicillin (12, 19, 152). Kobalt wirkt synergistisch (12, 134). In Gegenwart SH-haltiger Substanzen ist die Reaktion verzögert oder reversibel (135, 258). Patulin wird in ähnlicher Weise wie Penicillin durch SH-Gruppen beeinflusst (708). Den cytochemischen Nachweis dazu erbrachten Dufrenoy und Pratt (12, 33).
2. Streptomycin (120, 121)
3. Tetracycline (Chlortetracyclin, Oxytetracyclin) (1)
4. Hygromycin — (Reaktion reversibel) (292)
5. Antibiotika vom Chinontypus (Fumigatin, Actinomycin) (5, 18, 152) Chinone wirken allgemein zellteilungshemmend.
6. Arsen, p-Aminophenylarsenoxyd (139) (64, 819)
7. Methylglyoxal (58, 212)
8. Chlormerkuribenzoat (64, 139)
9. Alloxan (182)
10. Lost (13)
11. Methyl- bis (chloräthyl)-amin (452)
12. Sulfonamide (256, 252, 253)
13. H_2O_2 (464)
14. Antimon und Wismut (819)
15. $HgCl_2$ (252, 253, 258, 819)
16. Gold (47)
17. Thiouracil (183)
18. Cortison, ACTH (479)

Das Vitamin B₁₂ wird heute als Coferment bei Transmethylierungen (50) angesprochen. Schon 1943 erkannten Barron und Singer (809), daß B₁₂ im Stoffwechsel von Glutathion und SH-Gruppen eine Rolle spielt. Die B₁₂-Komponente wirkt als H-Überträger zu S-S-Gruppen (281) und kann in seiner Eigenschaft als mikrobiologischer Wachsfaktor durch reduzierende Stoffe (805, 806) oder durch Verminderung des O₂-Gehaltes im Medium (807, 808) ersetzt werden.

Nach Broquist (803) wird angenommen, daß die Dekarboxylierung von Pyruvat zunächst durch Cocarboxylase vermittelt wird und dann Acetaldehyd durch die Carbonylgruppe an den quaternären Stickstoff des Thiazolanteils des Thiamins gebunden wird. α -Liponsäure, die sich im Lipothiamidpyrophosphat (LTPP) in unmittelbarer struktureller Nachbarschaft des Thiamins befindet, wirkt als H-Akzeptor bei der Oxydation des Acetaldehyds, wobei ein S-Acetyl und eine freie SH-Gruppe entstehen. Die Acetylgruppe des LTPP wird enzymatisch auf Coenzym A übertragen, wobei dann aktives Acetat und reduziertes LTPP gebildet werden. Die Dithiolform des LTPP wird durch DPN*) zu ihrer ursprünglichen Disulfidform oxydiert.

Wie aus den Untersuchungen von Colarusso, Laritza und Donatelli (804) hervorgeht, kommt α -Liponsäure in allen Organen, außer in der Schilddrüse, vor. Das Tier besitzt die Fähigkeit α -Liponsäure zu synthetisieren. Viele Organsysteme, so z. B. die Niere, lassen sich durch α -Liponsäure aktivieren. In der Therapie verwendet man α -Liponsäure als hochwirksame antitoxische Substanz und Leberschutzfaktor. HgCl₂- und As-Vergiftungen lassen sich durch α -Liponsäure besser beeinflussen als durch BAL. Auch die Cyanid-, Pb- und CCl₄-Intoxikation ist einer Behandlung mit α -Liponsäure zugänglich. Der Alloxan-Diabetes bei Hunden kann mit α -Liponsäure vermieden werden.

Calvin (804) glaubt, daß die α -Liponsäure nicht die aktive Reaktionsform des pflanzlichen und tierischen Organismus ist, die biologisch aktive Form soll 6,8-Dithiooctanolsäure sein.

Bei verschiedenen Mikroorganismen wirkt Liponsäure als hochaktiver Wachsfaktor. Bei Streptococcus faecalis wird die Acetatbildung katalysiert. Auch an der oxydativen Dekarboxylierung von Ketsäuren ist α -Liponsäure als Wasserstoffakzeptor beteiligt (686, 687). Donatelli (804) berichtet über einen bakteriostatischen Effekt auf bestimmte Bakterien. Bei Pflanzen wird in kleinen Dosen das Wurzelwachstum stimuliert, in hohen Dosen inhibiert.

Bei der Besprechung der antibakteriellen Wirkung der einzelnen Chemotherapeutika und Antibiotika wurde jeweils speziell auf den Dithiol-Antagonismus eingegangen.

Resistenzphänomene bei Bakterien und ihre morphologische und biochemische Erfassung

Schon Paul Ehrlich hatte sich 1908 bei seinen chemotherapeutischen Arbeiten an Trypanosomen mit dem Problem der Resistenz auseinanderzusetzen, es ist demnach so alt wie die Chemotherapie überhaupt. Für die vorliegende Fragestellung ist ausschließlich das Problem der bakteriellen Resistenz mit weiterer Beschränkung auf bakteriologisch-morphologische und biochemische Gesichtspunkte von Interesse.

Das Problem der organismischen Chemoresistenz, sowie Fragen der Genetik, Immunbiologie, Epidemiologie und Klinik, die dem Komplex der bakteriellen Resistenz zuzuordnen sind, müssen, sofern sie nicht schon bei der Besprechung der allgemeinen morphologischen Gesichtspunkte er-

*) DPN = Diphosphopyridinnukleotid

wähnt wurden, außer Betrachtung bleiben. Heilmeyer (226) hat vor kurzem in einem Übersichtsreferat zum Resistenzproblem Stellung genommen. Die Kenntnis einiger Grundgesetze der Resistenz wie die Gesetze der Dominanz, der Konstanz, der Spezifität, der gekreuzten Resistenz und der Dependenz haben die biochemischen Untersuchungen an der Mikroorganismenzelle und andererseits die Lehre von der Wirkungsweise der Antibiotika, wie neuerdings wieder eindrucksvoll am Beispiel des Pikromycins (771) dargetan werden konnte, entscheidend gefördert. Die Bakterienzelle benützt, um schädlichen Einflüssen in ihrer Umgebung zu entgehen, die verschiedensten Wege. So kennt man, um nur die wichtigsten zu nennen, eine Resistenz durch Permeabilitätsherabsetzung, Resistenz durch fermentative Zerstörung eines Antibiotikums, Resistenz durch Kompensierung von Konkurrenzmechanismen, Resistenz durch vermehrte Bildung eines blockierten Ferments sowie Resistenz durch Umgehung einer blockierten Reaktion („Bypath“) (155). Bei der Mannigfaltigkeit der Möglichkeiten einer Resistenzbildung ist es verständlich, daß über Änderung der Morphologie und Biochemie resistenter Bakterien bisher keine einheitlichen Befunde vorliegen und offensichtlich auch nicht zu gewinnen sind. Auch die zwangsläufig sich aufdrängende Frage, ob es möglich ist, durch Eingriffe in die biochemischen Leistungen des Bakteriums die Resistenzentstehung zu verhindern, ist unbeantwortet.

Bei der Erstisolierung können Atypien bezüglich der Morphologie, Fermentation von Kohlehydraten (776), so z. B. eine Verzögerung der Salicinspaltung bei *B. coli* unter Aureomycin, Farbstoffbildung, Toxinproduktion (773), Ergebnis des Tierversuchs und Reduktion der Pathogenität (774, 775), oft nicht geringe Schwierigkeiten bei der Identifizierung solcher Stämme aus pathologischem Material bereiten.

Im Rahmen der praktisch wichtigen therapiebedingten Resistenz konnten bei Untersuchungen an Hunderten von chemoresistenten Bakterienstämmen der verschiedensten Provenienz im Zeitraum von 1945—1953 in den Laboratorien des 8279 th General Hospital US-Army (German POW) in Carentan und Le Havre, der Zentralkliniken Göppingen sowie am Hyg.-bakt. Institut des Gesundheitsamtes der Stadt Stuttgart bei diesen Stämmen nur unwesentliche und nicht gesetzmäßig von der Norm abweichende biochemische Reaktionen festgestellt werden. Andere Untersucher kommen zu ähnlichen Ergebnissen (184, 228, 419). Bei Streptomycin-resistenten Stämmen soll in erster Linie die Synthese von RNS, aber auch von DNS zu Beginn der log-Phase verstärkt sein (51, 724). Bei Penicillin-resistenten Formen findet man nach Gale und Rodwell (772) keine intrazelluläre Anhäufung von freier Glutaminsäure. INH-resistente Mykobakterien zeigen keine katalatische H_2O_2 -Spaltung (44). Ein Mikrokokkenstamm, der gegen fünf Antibiotika resistent war, wies eine Verminderung der Koagulase-Produktion auf (770).

Auch die morphologischen Befunde bei resistenten Bakterien sind nicht einheitlich. Vielfach finden sich bei grampositiven Kokken und Bakterien Verlust der Färbbarkeit nach Gram und eine ausgesprochene Polymorphie. Varianten mit 60 000facher Penicillin-Resistenz sind nach Bellamy und Klimek (776) gramnegativ und pleomorph. McVeigh und Hobdy (777) ist es in vitro gelungen, bei *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* 209 P durch Penicillin-Na-G eine 187 500fache, durch Chloramphenicol eine 193fache, durch Chlortetracyclin eine 210fache, durch Dihydrostreptomycin eine 250 000fache und durch Subtilin eine 3125fache Resistenz gegenüber dem Ausgangsstamm zu erzeugen. Unter Penicillin-Einwirkung werden die Kokken bei einem Resistenzgrad von 1,0 mg/ml Penicillin in Übereinstimmung mit den Befunden von Bellamy und Klimek (776) gramnegativ. Variationen vom Kokkus zum Kokkobazillus, filamentöse Stäbchen, Diplokokken, diphtherioiden Formen kommen zur Beobachtung. Bei noch hoch-

gradigerer Resistenz werden die Zellen kleiner, kehren zur Kkokkoidform zurück, bleiben aber gramnegativ. Unter Chloramphenicol, Chlortetracyclin und Dihydrostreptomycin verlängern sich die Zellen, bleiben aber immer grampositiv. Unter Subtilin treten gramvariable und gramnegative Diplokokken und kurze Ketten auf. Hunter, Mudd und Woodburn (294) stellten keine Differenzen der Nuklearstruktur von Sulfathiazol empfindlichen und resistenten Mikrokokken fest.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß erst bei höheren Resistenzgraden, wie sie unter natürlichen Verhältnissen kaum zur Beobachtung kommen, markante und konstante morphologische und biochemische Veränderungen bei Bakterien auftreten. Die morphologische und biochemische Erfassung niedriger Resistenzgrade ist bei Bakterien infolge der Inkonzanz der Merkmalsbildung nicht möglich. Praktisch wichtig ist die richtige Erkennung und Zuordnung gramnegativer Varianten sonst obligat grampositiver Formen im primären Ausstrichpräparat nach chemotherapeutischen und antibiotischen Maßnahmen.

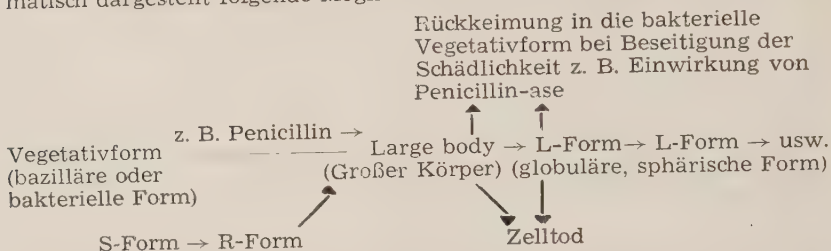
Der Formenkreis der Large bodies und L-Formen bei Bakterien und ihre Entstehung nach Einwirkung von antibiotisch wirksamen Substanzen auf die Bakterienzelle

Spontan auftretender Pleomorphismus bei allgemeinen formkonstanten Bakterien ist nach unserer heutigen Ansicht der Ausdruck einer temporären Störung im bakteriellen Stoffwechsel. Gewisse scharf zu definierende polymorphe, sehr fragile, globuläre Körper, die aus stäbchenförmigen Vegetativformen nach Anhäufung von Stoffwechselprodukten, spontaner Autolyse und Behandlung mit Bakteriostatika, Bakteriophagen und Antikörpern hervorgehen können, bezeichnet man als large bodies, swollen forms und L-Formen (709, 710, 711, 712). Nach der Definition von Dienes (717) versteht man unter L-Formen eine Gruppe von Bakterienvarianten, die durch eine von den Elternbakterien beträchtlich abweichende gemeinsame Morphologie charakterisiert ist.

Am Beispiel der L-Transformation bei *Proteus vulgaris* unter Penicillin-Einwirkung, die besonders eingehend untersucht ist und auch phasenkontrastisch in ihrem Zyklus verfolgbar ist, soll kurz das Wesen und die Bedeutung dieser eigenartigen globulären Entwicklungsformen soweit dies für das Verständnis der weiteren Untersuchungen und der Interpretation ihrer Ergebnisse unumgänglich erscheint, umrissen werden (711, 712, 713, 714, 730, 731).

Die Wirkung von Penicillin auf *Proteus vulgaris* kann sich entweder in einer Bakteriolyse, wobei am Ende nur die leere Membran übrigbleibt, manifestieren, dies geschieht meist bei hoher antibakterieller Wirkstoffkonzentration, oder es kommt zunächst zur Ausbildung von large bodies, sogenannten großen Körpern. Die stäbchenförmige Vegetativform ist eine globuläre sphärische Phase also in eine durchaus morphologisch-atypische Form übergegangen, für die eine außerordentliche Licht- und Temperaturempfindlichkeit, Fragilität und bei Penicillin-induzierten Globulärformen Penicillinresistenz und ein anspruchsvolles Nährstoffbedürfnis, sie wachsen in vitro nur bei sehr hohen Serumkonzentrationen (15–20%), charakteristisch ist. Chlortetracyclin und Chloramphenicol bleiben weiterhin toxisch für diese L-Formen. Die Globulärform hat wahrscheinlich keine normale Zellmembran (730), sie kann sehr groß (large body) oder auch relativ klein sein, so daß sie noch durch Filter gehen, von denen die bazilläre Form gerade noch zurückgehalten wird (731). Es gibt stabile und instabile Globulärformen. Die globuläre Form ist bei Stäbchen die Folge des Verlustes der formbedingenden Eigenschaften der Bakterienzelle (731). Mehrere Stunden

nach ihrer Entstehung können an ihnen strukturelle Veränderungen sichtbar werden. Ein Teil von ihnen platzt und geht sehr schnell zugrunde, andere Zellen verschwinden nach und nach. Daneben ist an den intakten großen Körpern vielfach eine Weiterentwicklung zu beobachten, die schematisch dargestellt folgende Möglichkeiten erkennen läßt:



Tulasne (715) fand bei der L-Transformation des *Proteus*, daß die large bodies hauptsächlich aus DNS-Granula mit einem schmalen Protoplasmasaum bestehen. Unter Penicillineinfluß findet nach Boivin und Tulasne eine deutliche Vermehrung der DNS und eine ebensolche deutliche Verminderung der RNS statt. Die von Kandler, Müller und Zehender (732) neuerdings publizierten Abbildungen zeigen aber, daß die Kernplasmarelation nicht so extrem verschoben sein muß. Es ist nicht bekannt, ob die Chromatingranula eine Veränderung durchmachen, ehe sie als L-Formen auswachsen können. Klieneberger-Nobel (716) beschrieb den Ursprung der L-Form durch Fusion von zwei lebenden Elementareinheiten zwei Chromatingranula. Tulasne neigt dazu, daß in den L-Formen der Stoffwechsel auf die Synthese und Erhaltung der wichtigsten Teile der Zelle, den Nukleus konzentriert ist, ohne Beachtung der übrigen Zellkomponenten. Die Verschiebungen im strukturellen Gefüge und die Verlangsamung des Stoffwechsels soll das Überleben des Bakteriums unter Bedingungen sichern, in denen gewöhnlich Bakterien nicht überleben.

Wie bereits erwähnt, werden die L-Formen nicht etwa nur durch Penicillin induziert sondern kommen allgemein dann zur Beobachtung, wenn die bakteriellen Vegetativformen eine *vita minima* bei ungünstigen Umweltbedingungen zu fristen haben. So können sich Streptomycin-dependente Bakterien in „large bodies“ umwandeln, sobald sie in ein streptomycinfreies Medium überführt sind (718). Das Auftreten der L-Formen ist auch keineswegs auf *Proteus vulgaris* beschränkt, so ist die L-Transformation bei *Corynebakterien*, *Vibrionen*, *Haemophilus influenzae* (719*) und *Streptokokken* (720) beschrieben. Prinzipiell werden wohl die L-Formen unter den vorgenannten Bedingungen bei allen Vertretern der Klasse der Schizomyceten zu erwarten sein. Der Grund dafür, daß dieser L-Phasenzyklus z. B. bei der Familie der *Coccaceae*, insbesondere der Gattung *Micrococcus* fast nie erwähnt wird, dürfte in der Tatsache zu suchen sein, daß die Transformation gerade bei diesen Formen mit keiner solch grundlegenden Umbildung der äußeren Gestalt einhergeht wie bei den Stäbchen, die sich zu sphärischen Gebilden abkugeln und daher leichter zu übersehen ist. Alleiniges Beurteilungskriterium bleibt also bei den „large bodies“ der Mikrokokken eine Vergrößerung und hohe Fragilität der Zelle, bei den L-Formen jedoch nur die Hinfälligkeit und die Abhängigkeit des kulturellen Züchtungserfolges von einem optimalen Milieu.

Unter der Einwirkung von Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Streptomycin, Dihydrostreptomycin und Chloramphenicol sind noch keine L-Formen beobachtet worden (721).

*) *B. coli*, *Flavobacterium*, *Neisseria*, grampositive Sporenbildner

Entgegen der Meinung von Heilmann (722), der die L-Formen ausschließlich als Degenerationsformen auffaßt, sind wir mit Dienes und Weinberger (723) der Ansicht, daß die L-Transformation eine in erster Linie zweckvolle Maßnahme zur Erhaltung der Art unter ungünstigen Lebensbedingungen ist. Die Entwicklungsreihe von der Vegetativform des Bakteriums über die large bodies bis zu den kleinen und kleinsten L-Formen ist wohl auch eine Reihe sich ständig vermindernder Vitalität. Schließlich kommt es natürlich bei einer ad maximum verminderten Vitalität zu Absterbeerscheinungen, so daß man bei den L-Formen Anpassungsphasen und bei Erschöpfung der Anpassungs- und Reaktionsmöglichkeiten, allerdings morphologisch wohl kaum abzugrenzen, fließende Übergänge zu Absterbephase zu beobachten Gelegenheit hat.

Einfluß von Sauerstoff bzw. Mangel an Sauerstoff auf die Morphologie und den Stoffwechsel bei Bakterien

Büchner und Rübsaamen (466, 887) konnten im Tierexperiment zeigen, daß die Mißbildungsrate bei Sauerstoffmangel wesentlich höher ist als unter normalen Bedingungen, sie führen dies unter anderem darauf zurück, daß die Synthese der RNS durch O_2 -Mangel erheblich gestört wird. Fyg (886) beschreibt eine durch O_2 -Mangel bedingte Entwicklungsstörung bei der Honigbiene.

Bei obligat aeroben Mikroorganismen beobachten wir, wenn wir sie in eine O_2 -Mangelatmosphäre verbringen, etwa aus der aeroben-anaeroben Grenzzone einer Thioglykolat-Bouillon, die wir zur Anreicherung, Selektionierung und Differenzierung von fakultativen und obligaten Anaerobiern empfohlen haben (828) und die seitdem auch in der Veterinärbakteriologie Eingang gefunden hat (46), oder eines Thioglykolat-Methylenblau-Agar-Hochschichtröhrchen (368) entnommen, teratologische Wuchsformen, die wir als Anpassungsversuch an die ungünstigen Umweltbedingungen zu werten haben.

Andererseits hemmt nach Rondoni und Bassi (464) sowie Lück (465) Sauerstoff unter Druck die in der Zelle ablaufenden Oxydoreduktionen, die Wasserstoff-übertragenden Fermentsysteme. Nach Lück (465) werden durch komprimierten O_2 besonders leicht diejenigen Mikroorganismen gehemmt, die nur über eine Fermentgarnitur verfügen, d. h. die entweder obligat aerob oder obligat anaerob zu wachsen vermögen. Es ist wahrscheinlich, daß der O_2 direkt an den für die Zellteilung wichtigen Elementarbausteinen wie leicht oxydierbaren Aminosäuren angreift, dadurch die submikroskopische Eiweißstruktur der Zelle verändert und eine Vermehrung unmöglich wird. Bekanntlich ist der Stoffwechsel bei der höher organisierten Zelle während der Zellteilung ein obligat anaerober (829), für die Bakterienzelle steht dieser Beweis noch aus.

Cavallo und Falcone (830) erzeugten durch Einleitung von 200 ml aufperlendem O_2 /min in den ersten 30 Minuten einen Wachstumsstopp und eine Bildung von großen Filamenten, Kugeln und Keulen nach 3 Stunden. Sie führen diese Wirkung auf die Bildung von H_2O_2 zurück und ziehen eine Parallele zu dem ionisierenden Strahleneffekt.

Beeinflussung der Pigmentbildung bei Bakterien durch Chemotherapie und Antibiotika

Nur weniger Vertreter unter den Farbstoffbildnern sind für den Human- und Tiermediziner von pathogenetischer Bedeutung. Abgesehen von den Mikrokokken (760), einigen coliformen Mikroorganismen wie *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, Shigellen. *Vibrio cholerae* und *Corynebacterien*

terium pyogenes, die fallweise Pigmente bilden können (759) und die schon seit altersher als krankmachend bekannt sind, galten die gramnegativen farbstoffbildenden Bakterien lange Zeit als apathogene Saprophyten. Seitdem die Chemotherapie und besonders auch die Therapie mit Antibiotika auf breiter Basis durchgeführt wird und die im allgemeinen dieser Therapie schwer zugänglichen Erreger (758) selektioniert werden, mußte man in zunehmendem Maße erkennen, daß diese Ansicht einer Revision bedarf und man nach Florenwechsel mit vermehrtem Auftreten dieser Vertreter zu rechnen hat und somit Saprophyten unter gewissen Voraussetzungen pathogen werden können (741, 742, 750). So ist heute die ätiologische Bedeutung von *Pseudomonas pyocyanea* in der Veterinärpathologie bei Darmerkrankungen bei Kälbern, septischen Zustandsbildern bei Ferkeln und bei Besiedelung des Genitaltraktes vor allem der Samenblasen und Epididymis beim Bullen als Sterilitätsursache (739), in der Humanpathologie bei Darmentzündungen von Säuglingen, Mittelohrabszessen, Endocarditis, septischen Allgemeininfektionen, Pneumonien und vor allem bei Meningitiden (733—738, 740) unbestritten. Ebenso ist die fakultativ pathogene Wirkung des *Prodigiosus*, der *Serratia marcescens* im Tierversuch an Kaninchen (743, 744) und Hunden (745) sowie in der Humanpathologie bei Infektionen des Respirationstraktes (746—749), bei Wundinfektionen, Otitis, Arthritis, Meningitis (751, 752), bei Endocarditis (753) und bei Infektionen des Urogenitaltraktes (754) gesichert. Fischer (755) berichtet scheinbar im Widerspruch dazu über eine rapide Wundreinigung bei Berieselung mit 24stündigen, mit physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmten Agarkolonien von *Serratia marcescens* in einer Dichte von etwa 2 Milliarden Keimen/ml. Fuller und Horton (756) gelang es dann, aus *Serratia marcescens* ein antibiotisch wirksames Polypeptid, das Marcescin, zu isolieren. Der bakterielle Antagonismus durch *Serratia marcescens* richtet sich vorwiegend gegen grampositive Mikroorganismen, nicht jedoch gegen gramnegative (757).

Eigene Beobachtungen an Wundinfektionen mit *B. flavum* in Mono- und Mischkultur bei extrem resistenzgeschwächten kachektischen deutschen Kriegsgefangenen, während der Jahre 1945—1947 (Untersuchungen durchgeführt im Bakt. Laboratorium des 8279 th General Hospital-US-Army-German-POW in Le Havre (Leiter: Dr. H. Gutschmidt) sowie 1953 bei einem 83jährigen marantischen Patienten (Untersuchungen durchgeführt im Hyg.-bakt. Institut beim Gesundheitsamt der Stadt Stuttgart (Leiter: Prof. Dr. Saleck), aus dessen faustgroßem Halsabzeß ungeklärter Genese *Flavobacterium proteus* in Reinkultur herausgezüchtet wurde, sowie 1953 die Herauszüchtung eines *Pseudomonas fluorescens*, der bisher nur als Abwassersaprophyt bekannt war, in Reinkultur aus dem Katheterharn einer Patientin mit Pyelonephritis machen es wahrscheinlich, daß auch diese Bakterien fakultativ pathogen werden können. Sédallian und Mitarbeiter (761) isolierten aus einer Blutkultur einen Stamm von *Flavobacterium faecale*. Auch durch *Chromobacterium violaceum* können nach Schattenberg und Harris (762) Septikämien bei Mensch und Tier ausgelöst werden.

Die Farbstoffbildung bei Bakterien ist ein sehr inkonstantes Merkmal. So ist es z. B. nicht möglich, bei starker Pigmentbildung auf hohe Pathogenität, Toxizität oder Therapieresistenz oder umgekehrt eines Stammes zu schließen. *Micrococcus aureus* kann sein Pigment durch wiederholte Kulturpassagen abschwächen oder ganz verlieren. Durch Tierpassagen wird die Pigmentproduktion gesteigert (764, 765). Generell ist festzustellen, daß die Farbstoffbildung bei ungünstigen Milieubedingungen (766, 767), so auch in Gegenwart von Antibiotika und Chemotherapeutika unterdrückt wird. In vitro gelingt es bei *Ps. pyocyanea*, *Ps. fluorescens*, *Serratia marcescens* und Flavobakterien durch Chloramphenicol, Neomycin, Poly-

myxin-B im Zuge einer allgemeinen Wuchsbehinderung die Farbstoffbildung zu inhibieren. Bei *Micrococcus aureus* gelingt dies außerdem durch Sulfonamide, Penicillin, Streptomycin, sowie die Tetracycline. Kimek und Mitarbeiter (769) beobachteten bei Penicillin-resistenten *Micrococcus aureus* zunächst eine Reduzierung der Pigmentbildung und dann einen totalen Pigmentverlust. Andersen (770) beschreibt einen pigmentlosen Mikrokokken-Stamm, der hochgradig resistent gegenüber Penicillin, Streptomycin, Chloramphenicol, Terramycin, Aureomycin sowie Sulfadiazin ist. Penicillin- und Streptomycin-resistente Mikrokokken-Stämme zeigen keine Pigmentbildung mehr. Chloramphenicol-Tetracyclin- und Subtilin resistente Stämme entwickeln teils heller, teils dunkler gefärbtes Pigment (777). Es handelt sich dabei nicht um einen spezifischen Effekt auf die Pigmentbildung, sondern um eine unspezifische allgemeine Wachsinhibition (768).

Dies Phänomene muß man kennen, um die wie gezeigt wurde, nicht ganz belanglosen fakultativ pathogenen Farbstoffbildner auch unter erschwerten Bedingungen z. B. therapiebedingtem Pigmentverlust richtig diagnostizieren zu können. Es wird empfohlen im Zweifelsfall eine oder mehrere Kulturpassagen auf optimalen Nährböden oder aber noch besser eine oder mehrere Tierpassagen zur Reaktivierung der Pigmentbildung einzuschalten.

Wirkung von Hormonen auf die Morphologie und den Stoffwechsel von Mikroorganismen

Das größte praktische Interesse für den Kliniker, besonders für den Geburtshelfer und Gynäkologen beanspruchen wohl zur Zeit die Beziehungen zwischen der Ausschüttung von östrogenen Hormonen und einer vielfach zeitlich gleichgeschalteten prädispositionellen Phase zur Besiedelung des Genitaltraktes mit pathogenen Mikroorganismen und der Gefahr einer daraus möglicherweise sich ergebenden Generalisation bakteriell-infektiöser Prozesse. Besonders Baier hat auf diese interessanten Zusammenhänge hingewiesen. Die Entwicklung der neuerdings so häufig auftretenden Pyometra bei Hündinnen soll vielfach durch eine ovarielle hormonale Fehlleistung bedingt sein. Auch beim Großtier scheinen Beziehungen zwischen der follikulären Phase des Zyklus und der Begünstigung einer Infekthaltung im Genitaltrakt zu bestehen. Auch bei der oft kritiklosen Gabe großer Mengen Follikelhormonen wird man sich im Hinblick auf diese Gefahrenmomente Beschränkungen auferlegen müssen.

Nach den Untersuchungen von Heim (442) lösen die östrogenen Hormone strukturelle und chemisch-physikalische Veränderungen im Bindegewebe aus, die sich als resistenzwirksam erweisen. Es bleibt vorerst abzuwarten, wie diese Befunde zu koordinieren sind. Offenbar haben wir es mit Blickpunkt auf eine erhöhte Infektionsdisposition dabei zunächst nicht mit der Wirkung der Östrogene auf die Reaktionslage des Makroorganismus, sondern primär mit der Wirkung der Östrogene auf die einzelne Zelle und somit auch die Bakterienzelle zu tun. Das 4,4'-Dioxydiäthylstilben (Diäthylstilboestrol), das sich in der organspezifischen gezielten Chemotherapie des Prostata-Ca gut bewährt (778—783), hat nach den Untersuchungen von Druckrey und seinen Mitarbeitern (784, 785, 786) einen direkten Angriffspunkt an der Tumorzelle und am Seeigelei (Hemmung der Furchungsteilung bei 0,5 Gamma/ml). Östrogene zeigen keine Effekte an den Chromosomen. Diese Mitosegiftwirkung der Östrogene (787—970) muß auf die phenolischen Eigenschaften der Substanz zurückgeführt werden. Agrell (791) fand Oestron im Seeigeltest inaktiv. Oestradiol (Parastellung der beiden OH-Gruppen) war dagegen mit einer D₅₀ von 1 Gamma/ml hochwirksam. Grundsätzlich ist Stilboestrol als Zellgift

anzusehen. Die Wirkungsstärke ist abhängig von der Konzentration des Giftes im Tumor.

Die Östrogen-Wirkung auf Bakterien wird nicht einheitlich beurteilt. Progynon (Östradiol) hemmt *Micrococcus aureus*, *Bac. anthracis* und *Klebsiella pneumoniae* in ihrem Wachstum (792). Auch Oestroglandol (793) und Ovocylin (794) hemmen das Bakterienwachstum. Biochemie und Morphologie bleiben dabei unverändert. Diaethylstilboestrol entfaltet nach Faulkner (795) auf grampositive Kokken in einer Konzentration von 1:5000 eine baktericide und 1:500 000 eine bakteriostatische Wirkung. Oestron und Oestradiol scheinen nach Faulkner ohne Wirkung zu sein. Postes und Mitarbeiter (796) fanden *in vitro* wiederum eine Begünstigung des Wachstums von *E. coli* durch Follikulin. In dem Auftreten pathologischer Stäbchenformen ist jedoch nach dem derzeitigen Stand der Coliforschung eine Schädigung der Erreger zu sehen. Eine starke Zellteilungshemmung bei Bakterien bewirkt p-Oxyphenylpropiofenon (785).

In eigenen Versuchen an *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* haemol. erwies sich Stilboestroldiphosphat (ST 52/Asta, Honvan-Asta) in einem Konzentrationsbereich von 11–22 mg/ml bakteriostatisch wirksam. Es finden sich bei ausgesprochener Schädigung von Plasma und Mitochondrien viele gramnegative Formen und Binukleoidformen.

Wachstumshemmend auf Bakterien wirken weiterhin Desoxycorticosteron (792, 798), Testosteron (792), Serum-gonadotrope (797), Progesteron (794).

Wachstumsfördernd wirken Percorten und Insulin (793).

Wirkung von Cortison (17-Oxy-11-Dehydro-corticosteron) auf die Morphologie und Biochemie der Zelle und der Bakterienzelle

Bekanntlich setzt Cortison ganz allgemein die Reaktionsbereitschaft der Gefäße der Synovia und des Bindegewebes herab und verhindert die Emigration von Leukocyten, die Fibrin- und Fibroblastenbildung sowie das Auftreten eines reaktiven Ödems; in erster Linie handelt es sich bei der Cortison-Wirkung um eine Unterdrückung (temporär) bzw. Ausschaltung der mensenchymalen Abwehraktionen. Gleichsinnig wirken Hydrocortison (17-Oxycorticosteron) und Prednison (Δ^1 2 Dehydrocortison-Metacortison). Isotalo und Teir (674) konnten unter Cortison einen antimittotischen Effekt in der Epidermis nachweisen. Bickel und Sekratan (675) stellten bei ihren ausgedehnten tierexperimentellen Versuchsreihen zum Thema Cortison und Schwangerschaft keine bleibenden Schäden beim Muttertier, verschiedene Empfindlichkeit bei den Föten (am deutlichsten bei höheren Affen, weniger bei Kaninchen, am geringsten bei Ratten) fest. Nur bei extrem hohen Dosen können Aborte ausgelöst werden. Cortisonacetat kann das unter Dehydroisoandrosteronacetat gebremste Wachstum von *Streptococcus faecalis* und *L. citrovorum* unterstützen (820, 821, 822).

Cortison und ACTH wirken zytostatisch auf junge mensenchymale Zellen; teilweise dürften damit die Remissionen bei kindlichen akuten Leukämien erklärt sein (799, 800).

ACTH vermindert die verfügbaren SH-Gruppen im Organismus (154).

Untersuchungen über die Wirkung von STH auf Mikrokokken

Das Wachstumshormon oder somatotrope Hormon (STH) ist seit 1921 als Inkret des Hypophysenvorderlappens bekannt. In der Folgezeit fehlte es nicht an Arbeiten, in denen die Wirkung des STH auf Wachstum, Stoffwechsel, Endokrinium, Blut, Allergie, Resistenz und klinische Nebenerscheinungen beim Makroorganismus abgehandelt wurden. (Übersichts-

referate 916, 917, 818). Über die Wirkung des STH auf die Bakterienzelle und den Stoffwechsel bei Mikroorganismen ist m. W. bisher nichts veröffentlicht worden.

Als Proteohormon ist das STH chemisch noch nicht exakt definiert. Die Isolierung, Reindarstellung, Standardisierung und Dosierung sind auch heute noch Probleme, die noch nicht befriedigend gelöst sind, so ist es auch erklärlich, daß bei den unterschiedlichen Chargen verschiedenartige, sogar einander widersprechende Wirkungen gefunden worden sind. Eine sehr geringe STH-Ausbeute bei der Aufarbeitung von Hypophysen hat bisher der hohen Kosten wegen die systematische Aufklärung des physiologischen Wirkungsspektrums des STH äußerst erschwert.

Im Hinblick auf die auch beim Mikroorganismus zu erwartenden Ergebnisse sind folgende durch STH im Makroorganismus ausgelösten reaktiven Veränderungen grundlegend:

1. **Stimulierung der Zellteilung:** Bei der Ratte werden 15 verschiedene Arten von Tumoren provoziert. Bei hypophysektomierten Tieren findet keine Provokation statt, ebenso nicht bei Mäusen. Bei Ratten beobachtet man z. B. Hyperplasie des peribronchialen Lymphgewebes, gelegentlich Cystadenome der Ovarien und Fibroadenome der Mamma.
2. **Verstärkte Eiweißsynthese unter STH** (hierzu ist Vitamin B₂ nötig): Beim hypophysektomierten Tier kommt es zu einer Abnahme der RNS in der Zelle. Auf STH steigt die RNS, nicht aber die DNS an. Das Influenzavirus wächst stärker bei Mäusen, die mit STH behandelt werden. STH regt bei der Kuh die Milchbildung an. STH enthält keine SH-Gruppen.

Eigene Untersuchungen:

STH wurde von der Orgapharm, München-Pasing, in der Charge Nr. 12009 als weißes, geruchloses Pulver zur Verfügung gestellt. Laut Deklaration lösen sich 10 mg in 1,0 ml (mit HCl auf pH 3,0 angesäuertem Wasser). Extraktionsmittelbeimengungen, die das Testergebnis beeinflussen könnten, müßten grobsinnlich nachzuweisen sein; dies ist nicht der Fall.

Geprüfte Wirkstoffkonzentrationen: 0,001/ml — 50,0/ml.

Die Nukleoid-Darstellung (DNS) mit der Perchlorsäure-Fuchsin-Methode bei einer Einwirkungszeit von 36^h bei 4 Grad C nach einer Fixierungsdauer von 10 Minuten in Chabaud'scher Lösung ergibt hinsichtlich Färbung, Größe, Zahl und Konfiguration von der Norm nicht abweichende Chromatinsubstanzbilder, selbst bei den Konzentrationsstufen 20,0—50,0/ml, in denen im Wachstumstest eine signifikante Hemmung des Wachstums bis zur absoluten Bakteriostase ermittelt wurde.

Bei der Beurteilung der nach Gram gefärbten Ausstrichpräparate ergibt sich im einzelnen folgendes Bild:

- 5,0/ml normal in Färbung und Konfiguration, keine Degenerationsformen. JG + + +, dunkles Zentrum, heller Hof.
- 10,0/ml Zelldetritus, Fäden neben normalen Kokkenformationen. JG + +, normal.
- 15,0/ml elongierte Formen, Zigarren, Stäbchen, Komma, zusammengeschoebene Ketten. JG + +, normal.
- 20,0/ml gramnegative Varianten, Trümmer, kleine Siegelringe, geringe Färbbarkeit, Schatten. JG + +, normal.
- 25,0/ml allgemeine Lysis, Hantelformen, Dornform. JG + +, normal.
- 30,0/ml dto
- 35,0/ml dto
- 40,0/ml Schaumstrukturen in 5facher Kokkengröße, große Siegelringe. JG + +, normal.

45,0/ml dto

50,0/ml Lysis, viele Kleinformen bzw. Körnchenformen, deutliche Anisocytose, ganz vereinzelt Großformen in doppelter-dreifacher Kokkengröße, Balken, Keilformen. JG ++, normal.

Beurteilung: STH bewirkt bei Konzentrationen von 20,0/ml bis 50,0/ml eindeutig Veränderungen im Stoffwechsel des Bakterienplasmas (RNS). der Stoffwechsel der Nukleotide bleibt dabei augenscheinlich völlig unbeeinflusst. Das Auftreten von Fäden, elongierten Formen, Stabformen, Siegelringformen in den niedrigen Konzentrationen spricht für eine verstärkte Eiweißsynthese im RNS-Bereich. Diese überstürzte RNS-Synthese bei normal ablaufendem DNS-Stoffwechsel führt infolge Hemmung des physiologischen Zellteilungsrythmus zu Riesenformen und schließlich zu Absterbeerscheinungen und definitiver Lysis.

Untersuchungen über die Wirkung von Vitamin-T-Goetsch auf Mikrokokken

Schon einige Jahre bevor die aufsehererregenden Arbeiten amerikanischer Forscher über den Animal-Protein-Faktor (APF, Vitamin B 12) und über die Wachstumseffekte verschiedener Antibiotika bekannt wurden, hatte W. Goetsch 1946 auf die Wachstumswirkung gewisser Pilzstoffpräparate hingewiesen. Seine Untersuchungen — begonnen an staatenbildenden Insekten und später ausgedehnt auf Vertreter fast aller Spezies — führten Goetsch zum Postulat eines biologisch von den bis dahin bekannten Vitaminen abgrenzbaren Wirkstoffes oder Wirkstoffkomplexes, den er Vitamin T benannte. Wie inzwischen zahlreiche experimentelle Untersuchungen bewiesen haben, ist T-Vitamin-Goetsch ein ausgesprochen zellaktiver Wirkstoffkomplex. Aus niederen Hefen und Pilzen gewonnen, besteht der Vitamin-T-Komplex teils aus nunmehr bekannten Wirkstoffen und Vitaminen B₁, B₂, B₆, Niacin, Coenzym A, Aminosäuren: Arginin, Lysin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin und Valin; in 1 ml: 4,8 γ -Folsäure, 1,2 γ -folinnic acid, 60 m γ -B₁₂ (915), Lactobacillus bulgaricus Faktor und Desoxyriboside, wobei noch andere unidentifizierte Faktoren an der biologischen Gesamtwirkung beteiligt sind. Nach heutiger Kenntnis nehmen die Wirkstoffe des T-Komplexes eine beherrschende Stellung im intermediären Zellstoffwechsel ein: Sie katalysieren die elementaren Funktionen der Nukleinsäure- und Proteinsynthese und bilden unentbehrliche Cofermente für Atmung und Energiegewinnung. Therapeutisch entspricht diesen unmittelbaren Angriffspunkten ein breites Anwendungsgebiet, das durch exakte klinische Untersuchungen erarbeitet wurde. Besonders bewährt hat sich der Vitamin-T-Komplex in der Pädiatrie bei Ernährungs- und Anwuchsstörungen im Säuglings- und Kindesalter, bei Cöliakie, bei Frühgeburtenaufzucht, bei körperlicher und geistiger Unterentwicklung Jugendlicher, zur Appetit- und Gewichtsverbesserung bei Tuberkulösen, bei Asthenie, Erschöpfungszuständen, erschwerter Rekonvaleszenz und in der Altersmedizin.

Auch über die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch den T-Wirkstoff-Komplex liegen Untersuchungen vor. Lohding (912) berichtet über eine sehr ausgesprochene wachstumsfördernde Wirkung auf Bakterien verschiedenster Art (Corynebakterien, Staphylococcus aureus mit intensiver Hämolysebildung, Ps. aeruginosa mit intensiver Farbstoffbildung, Neisseria gonorrhoeae, Bac. subtilis). Er arbeitete mit einem Vitamin-T-Extrakt in Konzentrationen von 0,5 — 2,0% bei nachheriger Beimpfung im Plattenkulturverfahren (Agar, Blutagar, Tellurplatten). Regelmäßig fand Lohding bei der mikroskopischen Auswertung morphologische Veränderungen am Bakterienleib, meistens im Sinne von Riesenformen. Schmagar (913, 914)

stellte bei der Nachprüfung dieser Versuche von Lohding fest, daß die Wuchsstoffwirkung des T-Komplexes auf Bakterien im Vergleich zu Hefeaulysat und Blut nur gering ist. Die morphologischen Veränderungen am Bakterienleib im Sinne von Riesenformen faßt Schmager nicht als Folge einer wachstumsfördernden Wirkung des Vitamin T auf, sondern deutet sie als Degenerationserscheinungen, wie sie ja bei einzelnen Bakterien in suboptimalem Wachsmilieu und als Alterungsvorgang ubiquitär vorkommen. Lohding (914) spricht sich in der Diskussion dahingehend aus, daß es sich wohl um Degenerationsformen, aber bei gleichzeitig gesteigertem Wachstum, wie z. B. auch bei unterschwelligen Penicillindosen, handelt. Eigene Untersuchungen, die in den Jahren 1951–52 durchgeführt wurden, bestätigten die morphologischen Befunde von Lohding, eine Größenzunahme, besonders bei grampositiven Kokken und Stäbchen, war auffallend. Eine bessere Anzüchtung anspruchsvoller Mikroorganismen durch Zusätze von T-Komplex ließ sich im Gegensatz zu den Ergebnissen von Lohding und in Übereinstimmung mit Schmager nicht erzielen.

Eigene Untersuchungen:

T-Vitamin-Goetsch-Extrakt wurde von Pharmazell-GmbH-Raubling (Abb.) in Form einer sirupösen dunkelbraunen, wasserlöslichen Flüssigkeit zur Verfügung gestellt.

Beurteilung: Der T-Wirkstoffkomplex nach Goetsch bewirkt noch in einer Verdünnung von 1:100 000 des nicht standardisierten Vitamin-T-Extraktes eindeutig Veränderungen im Stoffwechsel des Bakterienplasmas (RNS). Der Stoffwechsel der Nukleotide bleibt dabei augenscheinlich völlig unbeeinflusst. Die photoelektrischen Messungen ergeben bei Verdünnungen von 1:100–1:100 000 geringgradige Bakterienstoffvermehrung, die nach morphologischen Befunden nicht auf einer Beschleunigung der Zellteilung und damit auf einer sprunghaften Erhöhung der Bakterienzahl, sondern auf einer Vergrößerung der Einzelzelle durch verstärkte Eiweißsynthese im RNS-Bereich zu beruhen scheint. Da die Testung in einem optimalen Nährmilieu durchgeführt wird, sind zur Komplettierung und damit Erreichung des physiol. Optimums bei der Proteinsynthese in der Zelle nur geringe Mengen an Vitamin T erforderlich. Bei Verdünnungen von 1:10 und 2:10 kann die Substanzvermehrung der einzelnen Bakterienzelle noch weiter gesteigert werden. Diese überschießende, sicher unphysiologische RNS-Synthese bei normal ablaufendem DNS-Stoffwechsel führt infolge Hemmung des physiologischen Zellteilungsrhythmus zu Riesenformen und schließlich werden die Messungsergebnisse durch simultan mit der Substanzvermehrung ablaufende Absterbe- und Lysiserscheinungen bei einem Teil der Kokkenpopulation verschleiert.

Wirkung von Chemotherapeutika und Antibiotika auf die Beweglichkeit bei Mikroorganismen

Nach den Untersuchungen von De Robertis und Peluffo (374) ist die stärkste Bewegungshemmung bei Bakterien, als Testorganismus diente der stark bewegliche *Proteus vulgaris*, durch SH-Inhibitoren vom Merkaptidtypus, besonders mit p-Chloromercuribenzoat zu erzielen. Die Wirkungsspezifität der SH-Inhibitoren wurde durch die Reversibilität nach Zugabe von thiolreduzierenden Stoffen wie Cystein und Glutathion erwiesen. Nach De Robertis und Peluffo haben Kaliumcyanid, Natriumazid, Natriumfluorid und Malonat keine Wirkung auf die Beweglichkeit von *Proteus vulgaris*. Narkotika (Chloralhydrat, Barbitol, Phenobarbital, Chloroform) hemmen die Beweglichkeit nur bei hohen Dosen. Dieser Ef-

fekt ist durch Auswaschen in Puffer reversibel. ATP andererseits stimuliert die Beweglichkeit von *Proteus vulgaris*. Die Flagellarproteine kontrahieren sich unter der ATP-Wirkung. Auf Grund von Röntgen-Diffraktionsstudien von Astbury und Weibull (397) ist anzunehmen, daß die Geißeln von *Proteus* und *Bac. subtilis* die Natur von Primitivhaaren oder Muskeln haben. Die Keratin-Myosin-Epidermis-Fibrinogen-Gruppe entstammt einem gemeinsamen Grundplan. Eine Flagella ist als monomolekulares Haar oder Muskel aufzufassen.

Angriffspunkt der SH-Inhibitoren von Merkaptidtypus am Bewegungsapparat der Bakterienzelle sind demnach SH-Gruppen im kontraktilen Flagellarprotein oder einem SH-abhängigen Enzym, möglicherweise der ATP-ase. Unter Berücksichtigung der Befunde von Barron und Singer (421, 455), die feststellten, daß p-Chloromercuribenzoat als stärkster Inhibitor bei größter Spezifität die ATP-ase-Aktivität des Myosins vollständig inaktiviert, und Bailey und Perry (470), die erkannten, daß zur Bildung von Actomyosin SH-Gruppen wichtig sind, gewinnt die Arbeitshypothese, daß bei der Bewegungshemmung primär die ATP-ase außer Funktion gesetzt wird und daher kein ATP zum Bewegungsantrieb bereitgestellt werden kann, sehr an Wahrscheinlichkeit.

Wie bereits erwähnt, beobachtete Wallhäuser, daß die sehr langsame intracytoplasmatische Bewegung der Reduktionsorte, die eindeutig von der Brown'schen Molekularbewegung abzugrenzen ist, durch Chemotherapie und UV-Licht gebremst bzw. aufgehoben werden kann. Wir neigen zu der Ansicht, daß es sich beim Bewegungsmechanismus der sogenannten Redoxorte ebenfalls um eine direkte Analogie zum Mechanismus der Muskelkontraktion oder besser zur Aktion kontraktiler Proteine handelt. Die Redoxorte sind, wie bereits angeführt, aller Wahrscheinlichkeit nach mit den Mitochondrien gleichzusetzen. Die Mitochondrien ihrerseits sind bekanntlich funktionell u. a. Träger der Synthese der energiereichen organischen Phosphate, besonders des ATP (657). Auch hierbei könnte man sich demnach zwanglos die Bewegungshemmung als Wirkung auf die ATP-ase erklären.

White (471) berichtet über die Toxizität von Schwermetallen auf Sperma. Fe^{++} , Cu^{++} sind besonders toxisch für Bullensperma, Cd^{++} , Pb^{++} , Co^{++} besonders toxisch für menschliches Sperma. Die dabei resultierende Bewegungshemmung ist durch Glutathion in ihrem Effekt zu mildern.

Hoffmann-Berling und Weber (509) ist es neuerdings gelungen, kontraktiles Eiweiß aus Sarkomzellen zu isolieren. Alle Arten von undifferenzierten Zellen, also auch die Sarkomzellen, müssen als Wanderzellen kontraktiles Protein enthalten. Alle Zellkontraktionen erfolgen unter den gleichen Bedingungen wie die Kontraktion des kontraktilen Muskel-eiweißes, gleichermaßen wurde das festgestellt für die Rolle des Nukleosidtriphosphats (ATP, ITP) wie für die Hemmungen und Aktivierungen durch Ca^{++} und Mg^{++} und die Unterdrückung der Kontraktion durch Gifte wie Salyrgan und Germanin.

Goldberg und Logue (512) betrachten den Motilitätsverlust als brauchbaren Indikator für die antibiotische Empfindlichkeit von Leptospiren. Eagle (545) beschreibt Bewegungshemmung bei *Treponema* unter der Einwirkung von substituierten Phenylarsenoxiden, Dunham und Mitarbeiter (626) Motilitätsstörungen bei *Treponema* unter Penicillin und Chang (655) sah einen Bewegungsstop der *Leptospira icterohaemorrhagica* unter Penicillin.

Eigene Untersuchungen an *Trichomonas fetus* sowie Bakterien in vitro und in vivo lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß bei der Makro- und der Mikroorganismenzelle ein und dasselbe funktionelle Prinzip zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Bewegung wirksam ist, die Bereitstellung von ATP als Längenänderungssubstanz. Nach Blockierung dieser

Reaktion erlischt nach einer kurzen Übergangszeit, während der das restliche ATP verbraucht wird, jede Bewegung.

Auf der Suche nach einem geeigneten Chemotherapeutikum zur Beherrschung der sonst meist weitgehend therapieresistenten *Proteus-vulgaris*-Infektionen wurden wir (299) auf das Bilamid, einen gedeckten Aldehyd, aufmerksam und erkannten seine hohe Wirksamkeit gegenüber sehr vielen Bakterienarten. Besonders eindrucksvoll dabei war eine starke bis absolute Hemmung des Schärmvermögens von *Proteus vulgaris* auf der Blutagarplatte, der Serumagarplatte und der gewöhnlichen Nähragarplatte. Unter Bilamid-Instillations- und Spülbehandlung war aus Fisteln und Empyemresthöhlen des Menschen regelmäßig zunächst nur *Proteus vulgaris* herauszuzüchten, der in seiner Beweglichkeit stark gehemmt war, bei Überwiegen der O-Formen, waren nur noch wenige H-Formen herauszuzüchten. Bald danach gelang es dann, bei konsequenter Fortsetzung der Behandlung immer die Fisteln und Resthöhlen zu sterilisieren und später auch zum Verschuß zu bringen. Vorbedingung für einen Therapieerfolg ganz allgemein bei Infektionen mit beweglichen Mikroorganismen ist die Herabsetzung oder Ausschaltung der Bewegung. Ein so arrestierter Mikroorganismus ist dann weiteren antibiotischen Angriffen und den Maßnahmen der körpereigenen Abwehrmechanismen viel schutzloser ausgeliefert als bei erhaltener starker Beweglichkeit, wo es ihm möglich ist, sich den schädigenden Einflüssen weitgehend zu entziehen.

Bei der Aufnahme des antimikrobiellen Spektrums von Cealysin, einem Cytostatikum vom Trimethylolmelamin-Typus, fiel nun besonders eine trichomonacide Wirkung auf. — Die folgenden Befunde wurden mit *Trichomonas fetus* im hängenden Tropfen bei jeweils 1 Tropfen Trichomonadenkultur und 1 Tropfen Wirksubstanz erzielt. Bei Verwendung einer 3%igen Lösung von 2. 4. 6 Trioxymethylamino-1. 3. 5 triazin, diese Konzentration entspricht der unverdünnten Cealysin-Original-Ampullenlösung, ist eine schlagartige Abrundung und Immobilisierung der Trichomonaden zu beobachten. Eine Remobilisierung wurde auch bei langfristiger Beobachtung nach Verbringen des Präparates in eine feuchte Kammer niemals gesehen. Die Schädigung ist demnach irreversibel. Die tatsächliche trichomonacide Wirkung dieser Cealysin-Konzentration wurde durch erfolglose Anzüchtungsversuche auf Difco-Lash-Serum-Spezialnährmilieu und dem üblichen Pferdeserum-Nährboden mit Zusatz von Penicillin, Streptomycin und Ascorbinsäure sowie negative Übertragungsversuche auf weibliche Goldhamster nachgewiesen. Verdünnt man das Cealysin im Verhältnis 1 : 1 mit physiologischer NaCl-Lösung, so erhält man dasselbe Ergebnis. Bei einer Verdünnung im Verhältnis 1 : 5 wird die irreversible Schädigung nach 30 Sekunden mit einer Abrundung und Immobilisierung eingeleitet. Bei einer Verdünnung von 1 : 10 ist nach 2 Minuten die Beweglichkeit der Trichomonaden deutlich herabgesetzt, in der Mehrzahl bewegen sie sich lediglich noch an Ort. Diese Kreis- oder Wirbelbewegung erfolgt eigentümlicherweise vorwiegend entgegen dem Uhrzeigersinn. Nach 5 Minuten bemerkt man nur noch geringgradige Zuckungen. Nach 7—8 Minuten erfolgt die Abrundung und Immobilisierung. Kontrollen nach 60 Minuten ergeben die Irreversibilität des Vorganges. Cealysin-Verdünnungen von 1 : 50 und 1 : 100 sind wirkungslos. Um eine Formaldehyd-Wirkung auf die Trichomonaden auszuschließen wurde zur quantitativen Abbindung allen in der Cealysin-Lösung möglicherweise vorhandenen freien Formaldehyds zu gleichen Teilen eine Natriumsulfit-Lösung hinzugegeben. Die Ergebnisse stellen sich wie folgt vor:

Abrundung und Immobilisierung bei einer Cealysin-Verdünnung von:

1 : 10	nach 2—4 Minuten
1 : 20	nach 4—5 Minuten

- 1 : 30 nach 20 Minuten
 1 : 40 und 1 : 50 nach 25 Minuten noch deutliche Plasmabewegung, bei sonst sistierender Lokomotion.

Systematische in vitro durchgeführte Beweglichkeitsstudien an *Trichomonas fetus* und einigen stark beweglichen *Proteus vulgaris*-Stämmen (4-stündige Kultur nach mehrmaligen Passagen in Brain heart infusion broth-Difco) unter Bilamid und Cealysin führten zu folgenden Resultaten. Als Kriterium der Beweglichkeit im hängenden Tropfen dienen schnelle Kreisbewegung und Streckenbewegung (Feldbewegung).

I. Versuche an *Proteus vulgaris*

a) Cealysin in 3%iger Lösung

Nach 4—6 Minuten deutliche Bewegungshemmung, vereinzelt Kreiselbewegung an Ort. Nach 15 Minuten absolute Ruhigstellung, die bis zum Ende der Beobachtungszeit nach 90 Minuten unverändert andauert. Bei einer Cealysin-Konzentration von 0,3% ist nur eine temporäre Bewegungshemmung etwa nach 5—7 Minuten bis längstens 15 Minuten zu beobachten. Nach 20—25 Minuten greift wieder die normale Beweglichkeit Platz.

b) Cealysin in 3%iger Lösung + ATP (1 Tropfen einer 1%igen Lsg.)

Nach einer Expositionszeit von 90 Minuten ist keine Einschränkung der Bewegungsintensität festzustellen, die Cealysin-Wirkung also völlig kompensiert.

c) Kontrolluntersuchung ohne Cealysin und ohne ATP

Nach 4 Minuten ist die Lokomotionstendenz gegenüber der Norm geringgradig reduziert. Dies dürfte auf die veränderten Temperaturbedingungen, es wurde nicht auf einem heizbaren Objektisch unter konstanten Temperaturbedingungen gearbeitet, zurückzuführen sein. Eine weitere Einschränkung der Beweglichkeit wurde in der Beobachtungszeit bis zu 90 Minuten nicht gesehen.

d) Kontrolluntersuchungen ohne Cealysin aber mit ATP

Nach einer Anlaufzeit von 10 Minuten ist die Beweglichkeit gegenüber der Kontrolle ohne ATP deutlich gesteigert. Dieser Grad der erhöhten Beweglichkeit fällt nach Erreichen eines Maximums nach etwa 15 Minuten während 90 Minuten nicht ab.

e) Cealysin in 3%iger Lösung + BAL (1 Tropfen einer 0,05 %igen Lösung von 2,3 Dithiolpropanol)

Erst nach 15 Minuten bemerkt man eine stärkere Herabsetzung der Beweglichkeit, ohne Zusatz von BAL ist dies bereits nach 4—6 Minuten der Fall. Nach 30 Minuten ist noch eine deutliche Kreiselbewegung an Ort, die nichts mit der Brown'schen Molekularbewegung zu tun hat, aber keine Feldbewegung mehr festzustellen. Es handelt sich demnach unter BAL-Einfluß, einem SH-Donator, um eine zwar deutliche Verzögerung der Cealysin-Wirkung nicht jedoch um eine absolute Wirkungskompensation.

f) Kontrolluntersuchung ohne Cealysin aber mit BAL

BAL ist bezüglich der Wirkung auf die Beweglichkeit bei *Proteus vulgaris* fast indifferent. Keinesfalls jedoch steigert es seine Beweglichkeit, im Gegenteil beobachtet man nach 10—15 Minuten eine allerdings geringe Herabsetzung der Beweglichkeit.

g) Bilamid in 4%iger Lösung

Nach 2—3 Minuten absoluter Bewegungsstop. Bei Zugabe von ATP nach 25 Minuten noch an Ort-Bewegung. Die Bewegung ist gebremst, aber unter ATP nicht aufgehoben.

Bilamid in 0,8%iger Lösung

Nach 10 Minuten nur unvollständige Bewegungshemmung. Bei Zugabe von ATP keinerlei Hemmung, normale Beweglichkeit.

2. Ergänzende Versuche an Trichomonas fetus

a) Durch ATP-Zusatz gelingt es die Bewegung gealterter (2—3 Wochen alte Pferdeserum-Kulturen) Trichomonaden, die strukturell allerdings nicht geschädigt sein dürfen, aber augenscheinlich keine Lokomotion mehr zeigen, zu aktivieren. Diese Bewegungsaktivierung nimmt einen ganz gesetzmäßigen Ablauf. Nach einer kurzen Anlaufzeit von einigen Minuten fängt zuerst die undulierende Membran an zu schlagen, dann nach einer weiteren kurzen Latenzphase beginnt auch der Geißelapparat mit koordinierten Bewegungen.

b) Bilamid in 4%iger Lösung

Nach 1—2 Minuten erfolgt Abrundung und absolute und definitive Immobilisierung. Diese Wirkung ist mit ATP nicht zu kompensieren. Offenbar ist bei dieser hohen Konzentration die Denaturierung der Flagellarproteine und der zu ihrem Antrieb erforderlichen funktionellen Systeme so stark, daß eine Reaktivierung durch ATP unmöglich ist.

Bilamid in 0,8%iger Lösung

Nach 2—3 Minuten nur noch träge Kreisbewegung. Die undulierende Membran schlägt ruckartig, stoßweise und unkordiniert zuckend. Nach 7 Minuten nur noch andeutete Bewegung der undulierenden Membran, die bald darauf völlig erlischt. Bei einem Zusatz von ATP wird diese Immobilisierung aufgehoben und man sieht selbst nach 25 Minuten bei einzelnen Formen noch deutliche Orts- und Feldbewegungen mit Einsatz aller Geißeln.

Zusatz von BAL ergibt eine deutliche Verzögerung des Eintrittes der prämortalen Kreisbewegung sowie der Starre. Nach 20 Minuten ist unter BAL dieser Zustand erreicht. Allerdings sind auch vorher keine deutlichen ausgiebigen Feldbewegungen festzustellen.

Ohne hier auf weitere Einzelheiten eingehen zu können, sind mit diesen Untersuchungen in Übereinstimmung zu Mundt (682) und Reusse (683) weitere Beweise dafür beigebracht, daß die Rundformen des *Trichomonas fetus* nicht unbedingt Degenerations- und Absterbeformen sein müssen. Wie gezeigt werden konnte, lassen sich völlig bewegungslose Rundformen aus alten Kulturen, selbst ohne endoplasmatische Molekularbewegungen, durch ATP-Zusatz in ihrer Lokomotion aktivieren und zur Vitalform rückverwandeln. Reusse (683) gelang es diese Rundformen in der Einzellkultur zur Vermehrung zu bringen. Es muß sich also um vermehrungsfähige allerdings sehr labile Ruheformen handeln. Wir neigen zu der Ansicht, die durch die Befunde von Reusse (683) an *Trichomonas foetus* bei Exposition unter nicht optimalen Temperaturen, Austrocknung unter Luftzutritt, in ungünstigen Nährböden und nach Zusätzen von Farbstoffen und Desinfektionsmitteln weiterhin gestützt ist, daß diese Rundformen in Anpassung an veränderte ungünstige Umweltbedingungen gebildet werden, im Gegensatz zu wesentlich widerstandsfähigeren Zysten, die von Reusse (683) im vorliegenden Falle mit aller Entschiedenheit negiert werden, aber kontinuierlich einwirkenden Noxen gegenüber sehr empfindlich sind und die dann leicht dem definitiven Zelltod, einer Mazeration und Lyse anheimzufallen.

Die unter 1 und 2 angeführten Befunde lassen erkennen, daß Bilamid und Cealysin sinngemäß eine der Klasse der Merkaptide gleichzusetzende Wirkung auf den Bewegungsapparat von Mikroorganismen entfalten und sehr wahrscheinlich mit der in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit von SH-

Gruppen ablaufenden enzymatisch gesteuerten Bereitstellung von ATP, möglicherweise mit der ATP-ase interferieren.

Zusammenfassung

1. Toluidinblau, ein basischer Teerfarbstoff, hat sich zur Übersichtsfärbung und zur speziellen Darstellung der RNS-Strukturen im Bakterium in 0,1%iger wäßrigen Lösung bei einer optimalen Färbedauer von 30 Sekunden bis zu 1 Minute am unfixierten luftgetrockneten Ausstrich bewährt.

2. Mit der Trichrom-Färbung (Orange G, Methylgrün und Toluidinblau) nach Korson, die ebenso, wie die Toluidinblau-Färbung bisher nur in der Histologie und Hämatologie angewandt wurde, lassen sich bei Bakterien auch an unfixierten Präparaten farbstarke Bilder erzielen. Eine synoptische färberische Darstellung von RNS und DNS-Bezirken in differenzierter Färbtönung gelingt bei Bakterien mit der Methode nach Korson nicht.

3. Zur Darstellung von Polysacchariden in den Oberflächenstrukturen der Bakterien, der Kapsel, Zellwand und Cytoplasmamembran wird eine PAS-Methylgrün-Reaktion modifiziert nach Hotchkiss empfohlen.

4. Mit frisch bereiteter Janusgrün-B-Lösung gelingt am unfixierten Präparat (Vitalfärbung) eine Negativdarstellung des Bakterienzellkerns bei *B. coli* und *Bac. cereus*. Auch mit der Gram-Färbung ist es allerdings nach Hitze-fixierung und unter Verwendung von verdünntem Fuchsin (1 : 10) zur Gegenfärbung eine Negativdarstellung des Zellkerns im *B. coli* möglich. Eine Positivdarstellung erreicht man nach Alkoholfixierung mit der Azur-Eosin-Methode.

5. Versuche mit dem Ziel der Darstellung cytoplasmareiner, nackter oder cytoplasmareicher Bakterienzellkerne mit Hilfe eines Vibrators bei 4000 Schwingungen, ergeben nach einer Expositionszeit von 60 Minuten praktisch keine normal konfigurierten Zellen mehr. Es ist jedoch bis jetzt selbst unter Heranziehung der Membranfiltration mit abgestufter Variation der Filter mit verschiedener Porenweite, nicht gelungen den Kern vom Plasma zu isolieren. Die Versuche werden fortgesetzt.

6. Die besten Ergebnisse bei der Vitalfärbung der Bakterienmitochondrien mit Janusgrün sind mit einer 0,1%igen wäßrigen Janusgrün-B-Lösung der Firma Chroma-Schmid (vormals Grübler) bei einer Färbezeit von 30 Minuten am unfixierten Präparat zu erzielen.

7. Bei Bakterien angewandt, gestattet die von uns modifizierte Formol-Sublimat-Toluidinblau-Methode nach Love aufschlußreiche Einblicke in den cytologischen Aufbau der Bakterienzelle. So kann z. B. aus diesen Befunden geschlossen werden, daß die Mitochondrien oder Mitochondrien-äquivalente bei Mikrokokken im Bakterienplasma ringförmig um den zentralen Kern herum angeordnet sind.

Unter Heranziehung aller Darstellungsmöglichkeiten von Protoplasma, Mitochondrien und Kern läßt sich ein Bauplan eines Micrococcus entwerfen.

Bei *B. coli* und *Proteus vulgaris* ist eine synoptische Darstellung von Kern und Mitochondrien nicht möglch. evtl. handelt es sich hierbei um eine pseudoisotope Lokalisation beider Zellstrukturen.

8. Bei Mikrokokken sind Alterungs- und Absterbeerscheinungen morphologisch erkennbar. Ohne Subkultivierung ergibt sich ein sich selbst erschöpfender Teilungszyklus. Auch ohne Einzellisolierung ist es möglich durch Reihenversuche in einer größeren Mikrokokken-Population die einzelnen Wachstumsphasen morphologisch zu charakterisieren. Bei der Wirkung zellfremder und stoffwechselfremder Substanzen wie z. B. die Chemotherapeutika und Antibiotika auf die Mikroorganismenzelle handelt es sich im wesentlichen um nichts anderes als um zeitlich geraffte Absterbeerscheinungen.

9. Das Auftreten von variablen Adaptionsformen, Degenerations- und Involutionsformen bei Mikroorganismen ist der feinste Indikator ferment-biologischer Schädigung oder sonstiger Störungen im Bau- und Betriebsstoffwechsel der Bakterienzelle. Es ist sehr wahrscheinlich, daß im lebenden Protoplasma der einzelnen Bakterienzelle, ebenso wie dies für die Makroorganismenzelle durch R. Wagner postuliert wird, Automatismen eine Rolle spielen, die eine Konstanz der Lebensbedingungen aufrecht zu erhalten trachten. In dem Augenblick in dem diese sogenannten durch Rückkoppelung in sich geschlossenen Reglersysteme zerstört sind, setzt der Zelltod ein.

Es ist somit möglich geworden, die Wirksamkeit eines Chemotherapeutikums oder Antibiotikums durch morphologische Veränderungen am Bakterium sichtbar zu machen und fortlaufend zu kontrollieren.

10. Die Kern-Plasma-Relation ist auch bei der Bakterienzelle eine stoffwechselphysiologische Notwendigkeit.

11. bakteriostatische Wirkung der meisten untersuchten Metalle, Chemotherapeutika, Antibiotika, Cytostatika und sonstiger biologisch aktiver Substanzen richtet sich gegen SH-Gruppen abhängige und gesteuerte Funktionsabläufe im Protoplasma und den Mitochondrien. Vielfach ist ein vollwirksamer Schutz durch BAL (Dimerkaptopropanol) gewährleistet (Dithiolantagonismus). Monothiole, wie Glutathion sind nur sehr begrenzt wirksam und heben die Blockierung der SH-Gruppen in höheren Wirkstoffkonzentrationen nicht auf. Es liegt also hier ein gemeinsames Wirkungsprinzip vor.

Da durch die chemotherapeutisch induzierte Desorganisation der Protoplasmakomponente auch indirekt das Fließgleichgewicht zwischen Plasma und Bakterienzellkern gestört ist, kommt es, wenn auch erst bei größeren Wirkstoffkonzentrationen und längerer Einwirkungszeit auch zur Kernschädigung.

Die Lebenstüchtigkeit der Bakterienzelle ist nicht an eine äußere Gestalt und Struktur des Protoplasmas und Chromatins gebunden (Braun).

Die Vermehrungspotenz erlischt definitiv erst dann, wenn die Kerne irreversibel desorganisiert und desintegriert sind. Der Kern hat auch in der Bakterienzelle als Steuerungszentrum für die gesamten Lebensvorgänge zu gelten.

Bei den Sulfonamiden stehen je nach den Struktureigentümlichkeiten des jeweiligen Derivats Schädigungen an Protoplasma oder Mitochondrien oder Bakterienzellkern oder kombinierte Funktionsstörungen an erster Stelle. Dosulfin, ein Präparat, das auf dem Prinzip der Sulfa-Addition beruht, übertrifft in der Wirkungsintensität und Löslichkeit die Spitzensulfonamide der Gruppe der Dimethylprimidine.

Die quartären Ammoniumbasen denaturieren die Eiweißbausteine im Protoplasma, Kern und den Mitochondrien. Ein Dithiolantagonismus fehlt, d. h. BAL-Zusätze sind wirkungslos.

Auch bei den Akridinfarbstoffen besteht kein Dithiolantagonismus. Ihre Wirkung richtet sich primär gegen die Stoffwechselprozesse im Protoplasma, erst sekundär werden Mitochondrien und Bakterienzellkern betroffen.

Bei den meisten Tuberkulostatika vermag BAL nur das Bakterienwachstum zu beschleunigen nicht aber die Wirkung entscheidend zu antagonisieren.

Colchicin blockiert in erster Linie den Zellteilungs- und besonders den Kernmechanismus. Durch BAL ist kein Schutz nachweisbar.

Janusgrün eignet sich ausgezeichnet als Modellversuchsobjekt bei der experimentellen Darstellung rein bakteriostatischer Prozesse. Bereits makroskopisch ist an den Farbvarianten der Grad der Reduktion zu erkennen. Weiterhin bietet sich die Möglichkeit der intravitalen Anfärbung der

einzelnen Mikroorganismen unmittelbar im Test. Der Dithiolantagonismus ist bei Janusgrün voll wirksam.

Bei Lithiumchlorid und Caesiumchlorid ist eine Anormomorphogenese ohne Funktionsstörung der Mitochondrien gegeben.

12. Antibiotika setzen die Kraftanlage der Bakterienzelle, die in den Mitochondrienäquivalenten ihren Sitz hat, außer Betrieb.

13. Morphologische Veränderungen auf Grund antibiotischer Einwirkung gewähren einen besseren Einblick in die Struktur und Vermehrungsweise von Mikroorganismen, als es die normale Morphologie allein vermag.

14. Erst bei höheren Resistenzgraden, wie sie unter natürlichen Verhältnissen kaum zur Beobachtung kommen, treten markante konstante morphologische und biochemische Veränderungen bei Bakterien auf. Die morphologische und biochemische Erfassung niedrigerer Resistenzgrade ist bei Bakterien infolge der Inkonstanz der Merkmalsbildung nicht möglich. Praktisch wichtig ist die richtige Erkennung und Zuordnung gramnegativer Varianten sonst obligat grampositiver Formen im primären Ausstrichpräparat nach chemotherapeutischen und antibiotischen Eingriffen.

15. Die L-Transformation bei Bakterien ist in erster Linie eine zweckvolle Maßnahme zur Erhaltung der Art unter ungünstigen Lebensbedingungen. Die Entwicklungsreihe von der Vegetativform des Bakteriums über die large bodies bis zu den kleinen und kleinsten L-Formen ist wohl auch eine Reihe sich ständig vermindender Vitalität. Schließlich kommt es auch hier zu Absterbeerscheinungen.

16. Sauerstoffmangel erzeugt nicht nur im Makroorganismus und in der makroorganismischen Zelle Mißbildungen, sondern führt auch bei Bakterien zu teratologischen Wuchsformen, die wir als Anpassungsversuch an ungünstige Umweltbedingungen zu werten haben.

17. Die Farbstoffbildung bei Bakterien ist ein sehr inkonstantes Merkmal. Generell ist festzustellen, daß die Farbstoffbildung bei ungünstigen Milieubedingungen, so auch in Gegenwart von Antibiotika und Chemotherapeutika unterdrückt wird.

Die Farbstoffbildner (*Ps. pyocyanea*, *Serratia marcescens*, *B. flavum*) gewinnen, seitdem sie, im allgemeinen einer Therapie schwer zugänglich durch die moderne Chemotherapie und vor allem die Therapie mit Antibiotika selektioniert werden, eine immer größere Bedeutung als fakultativ pathogene Erreger.

18. Mit Blickpunkt auf eine erhöhte Infektionsdisposition während der follikulären Zyklusphase haben wir es offenbar zunächst nicht mit der Wirkung der Östrogene auf die Reaktionslage des Makroorganismus sondern primär mit der Wirkung der Östrogene auf die einzelne Zelle und somit auch die Bakterienzelle zu tun.

STH führt bei Bakterien zu einer überstürzten RNS-Synthese bei normal ablaufende DNS-Stoffwechsel. Dadurch wird der physiologische Zellteilungsrythmus gehemmt und es kommt schließlich zu Absterbeerscheinungen und definitiver Lyse. Ähnlich ist die Wirkungsweise von Vitamin-T-Goetsch.

19. Untersuchungen an *Trichomonas fetus* sowie Bakterien mit starker Beweglichkeit lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß bei der Makro- und der Mikroorganismenzelle ein- und dasselbe funktionelle Prinzip zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Bewegung wirksam ist, die Bereitstellung von ATP als Längenänderungssubstanz. Nach Blockierung dieser Reaktion erlischt nach kurzer Übergangszeit, während der das restliche ATP verbraucht wird, jede Bewegung. Cealysin erweist sich als trichomonacid wirksam.

Bilamid und Cealysin entfalten sinngemäß eine der Klasse der Merkapptide gleichzusetzende Wirkung auf den Bewegungsapparat von Mikroorga-

nismen und interferieren sehr wahrscheinlich mit der in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit von SH-Gruppen ablaufenden enzymatisch gesteuerten Bereitstellung von ATP, möglicherweise mit der ATP-ase.

20. Im ACN, einem Antibiotikum tierischer Herkunft, deren Präparation aus Bienen wir Herrn Dr. Franz Köhler, Alsbach verdanken und dessen chemische Konstitution noch völlig unbekannt ist, erkennen wir ein noch ungereinigtes, neues, hier erstmalig beschriebenes antibakteriell wirksames Prinzip mit breitem Wirkungsspektrum.

Am Schlusse dieser Arbeit erlaube ich mir, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann, für das große Interesse, das er der gewählten Problemstellung entgegenbrachte und das zur gütigen Überlassung eines Arbeitsplatzes Veranlassung gab, für seine rege Anteilnahme am Fortgang der experimentellen Untersuchungen und für die sonstige Förderung, die er mir angedeihen ließ, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Besonders dankbar bin ich auch dem Assistenten des Instituts, Herrn Dr. Michael Merckenschlager, der mir stets in liebenswürdigster Weise hilfsbereit zur Seite stand.

Lebenslauf.

Geboren am 27. April 1925 in Stuttgart als Sohn des Dr. jur. Friedrich Schmid und seiner Ehefrau Gretchen, geb. Schramm. Schulausbildung an der Grundschule und am humanistischen Eberhard-Ludwigs-Gymnasium in Stuttgart.

Nach Wehrdienst und Kriegsgefangenschaft Ablegung der Reifeprüfung anstelle des nach Einberufung zum Wehrdienst erteilten Reifevermerks in Verbindung mit einem Studium generale am Leibnizkolleg der Universität Tübingen und medizinische Vorstudien an der Universität Tübingen. Aufnahme des Studiums der Tierheilkunde im Jahre 1953 an der Universität München, Abschluß Ende November 1956 mit Ablegung der tierärztlichen Staatsprüfung.

LITERATUR-VERZEICHNIS

- 1 *Schole J.*, Naturwissenschaften 40, 555 (1953)
- 2 *Mulli K.* - *Uhlenbrock K.* - *Ludwig L.*, Arzneimittelforschung 3, 559 (1953)
- 3 *Ludwig L.*, Referat zum Vortrag von K. Mulli „Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Antibiotika mit besonderer Berücksichtigung des Aureomycins“ - Hamburg 8. 6. 1953
- 4 *van Meter J. C.*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 81, 215 (1952)
- 5 *Lettré H.*, Erg. Physiol. 46, 379 (1950)
- 6 *Franke H.* - *Thiele F. H.* - *Keller W.*, Ztschr. f. d. ges. exper. Med. 120, 422 (1952)
- 7 *Marquardt P.*, Pharmazie 4, 249 (1949)
- 8 *Lohel H.*, Z. f. Haut- und Geschlechtskrankheiten 15, 295 (1953)
- 9 *Günther G.*, Arch. f. Hyg. 137, 589 (1953)
- 10 *Loomis W. E.*, Science III, 474 (1950)
- 11 *Saz*, Antibiotika-Symposium-Washington 28.—30. 10. 1953
- 12 *Eagele*, Antibiotika-Symposium-Washington 28.—30. 10. 1953
- 13 *Rautenberg E.*, Materia Medica-Nordmark 366 (1953)
- 14 *Holzer H.* - *Sell J.* - *Schultz G.*, Tagung der Dtsch. Ges. f. Physiol. Chemie in Homburg-Saar 1953
- 15 *Sherry S.* - *Tilett W. S.* - *Christensen L. R.*, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 68, 179 (1948)
- 16 *Wiseman C. L.* - *Smadel J. E.* - *Hahn F. E.* - *Hoppps H. E.*, J. Bact. 67, 662 (1954)
- 17 *Jerchel D.* - *Möhle W.*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 77, 591 (1944)
- 18 *Kuhn R.* - *Beinert H.*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 76, 904 (1943), Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 77, 606 (1944)
- 19 *Grumbach A.*, Schweiz. Ztschr. allgem. Pathol. Bakt. XIII, 586 (1950)
- 20 *Hauptmann H.* - *Périsse A. C.*, Experimentia X, 60 (1954)
- 21 *Fiala S.*, Naturwissenschaften 40, 391 (1953)
- 22 *Lemay P.*, Progrès Medical 76, 37 (1948)
- 23 *Somerson N. L.* - *Morton H. E.*, J. Bact. 65, 245 (1953)
- 24 *Foster J. W.* - *Pittilla R. F.*, J. Bact. 65, 361 (1953)
- 25 *Cymerman-Craig J.*, Nature 175, 34 (1955)
- 26 *Baker H.* - *Bloom W. L.*, J. Bact. 56, 387 (1948)
- 27 *Fitzegerald R. J.* - *Bernheim F.*, J. Bact. 55, 765 (1948)
- 28 *Barkulis J.*, J. Bact. 65, 337 (1953)
- 29 *Few A. V.* - *Schulman S. H.*, Nature 171, 644 (1953)
- 30 *Thomsen G.* - *Carlson S.*, Zbl. Bakt. 159, 202 (1953)
- 31 *Kvittingen J.*, Acta pathol. scand. 12, 355, 363 (1953)
- 32 *Hompesch H.*, Zbl. Bakt. 159, 358 (1953)
- 33 *Dufrenoy J.* - *Pratt R.*, J. Bact. 54, 283 (1947)
- 34 *Schöberl A.*, Angew. Chemie 53, 227 (1940)
- 35 *Koulumies R.*, Ann. Med. exper. Biol. Fenniae 31, 24 (1953)
- 36 *Parmala M. E.*, Ann. Med. exper. Biol. Fenniae 31, 26 (1953)
- 37 *Steinberg B.*, Schweiz. Ztschr. allgem. Pathol. Bakt. XV, 432 (1952)
- 38 *Samuels P. J.*, Biochem. J. 55, 441 (1953)
- 39 *Kuff E. L.* + *Schneider W. C.*, J. biol. Chem. 206, 677 (1954)

- 40 Wood W. A. - Schwerdt R. F., J. biol. Chem. 206, 625 (1954)
- 41 Baumgärtel T. - Zahn D., Klin. Wschr. 29, 646 (1951)
- 42 Hoffman H., Nature 168, 464 (1951)
- 43 Bartholomew J. W. - Mittwer T., Stain technol. 25, 103 (1950), Ref. Exc. Med. IV. Sct. III, 5322 (1950)
- 44 Bönicke R., Naturwissenschaften 41, 430 (1954)
- 45 Oberste-Lehn H., Klin. Wschr. 32, 90 (1954)
- 46 Liebisch H., Wien. tierärztl. Wschr. 599 (1952)
- 47 Fleischmann R., Pharmazie 4, 241 (1948)
- 48 Kielley W. - Bradley L. B., J. biol. Chem. 206, 327 (1954)
- 49 Hartl W., Schweiz. Z. Tbk. 11, 65 (1954)
- 50 Dubnoff J. W., Fed. Proc. 11, 205 (1952), Arch. Biochem. a. Biophys. 37, 37 (1952)
- 51 Beljanski M. - Grumbach F., C. r. Acad. Sci. (Paris) 236, 2111 (1953)
- 52 Youmans G. P. - Youmans A. S., J. Bact. 65, 92, 96 (1953)
- 53 Manton A. - Wijngaarden L. J., J. Microbiol. Serol. 19, 93 (1953)
- 54 Baur H. - Staub H., Helv. physiol. acta 11, C 9 (1953)
- 55 Borchert R. - Helmcke J. G., Naturwissenschaften 37, 565 (1950)
- 56 Strugger S., Naturwissenschaften 34, 267 (1947)
- 57 Stüttgen G., Klin. Wschr. 30, 904 (1952)
- 58 Kun E., J. biol. Chem. 187, 289 (1950)
- 59 Utter M. F. - Werkman C. H., Biochem. J. 36, 485 (1942)
- 60 Pandalei K. M. - George M., Brit. Med. Journal 4518, 210 (1947)
- 61 Cedrangola F. - Fidanza A. - Quagliariello E. - Gioia Q. - Cresta M., Boll. Soc. ital. Biol. sperim. 27, 253, 255 (1951), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 153, 230 (1952)
- 62 Warburg O., Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten, Saenger-Berlin 1948
- 63 Harrison D. C., Biochem. J. 18, 1009 (1924), zit. n. 62
- 64 Singer T. P., J. biol. Chem. 174, 11 (1948)
- 65 Patter-Du Bois, J. gen. Physiol. 26, 391 (1943)
- 66 Ewing J., Neoplastic Diseases, WB Saunders-Philadelphia 1940
- 67 Cohen S. - Purdy C. V. - Kushnick J. B., Antibiotic a. Chemotherapy 4, 18 (1954), Fed. Proc. 11, 463 (1952)
- 68 Smith G. N. - Warrel C. S. - Swanson A. L., J. Bact. 58, 803 (1949)
- 69 Bloch K., J. biol. Chem. 179, 1245 (1949)
- 70 Marco A. di - Boretti G., Enzymologia 14, 141 (1950), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 149, 33 (1952)
- 71 Smith G. N. - Warrel C. S. - Lilligren B. L., Science 110, 297 (1949)
- 72 Euler H. v. - Heller L., Ark. Kemi 1, 293 (1950), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 148, 108 (1952)
- 74 Kennedy E. R. - Barbara J. F., J. Bact. 63, 297 (1952)
- 75 Wong D. T. O. - Barban St. - Ajl J., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 607
- 75 Wong D. T. O. - Barban St. - Ajl J., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 607 (1953)
- 76 Umbreit W. W., Chim. biol. (Paris) 6, 63 (1952)
- 77 Linz R., Ann. Inst. Pasteur 76, 250 (1949)
- 78 Rybak B. - Gros F. - Grumbach F., Ann. Inst. Pasteur 77, 148 (1949)
- 79 Miura Y. - Nakamura Y. - Yoshizawa Y. - Matsadaira H., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 822 (1953)

- 80 van Meter J. C. - Oleson J. J., Science 113, 273 (1951)
- 81 Beerstecher E., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 73, 200 (1950)
- 82 Lichstein H. C. - Gilfillan R. F., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 77, 459 (1951)
- 83 Viollier G. - Quiring E. - Staub H., Helv. chim. act 36, 724 (1953)
- 84 Lichstein H. C., Vitamins a. Hormones 9, 27 (1951)
- 85 Aronson J. D. - Ehrlich S. L. - Flagg W., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 80, 259 (1952)
- 86 Uecker W., Schweiz. Ztschr. allgem. Pathol. Bakt. 16, 222 (1953)
- 87 Bernheim F. - Deturk W. E., J. Pharmakol. a. exper. Therap. 105, 246 (1952)
- 88 Fust B., Pharmakotherapie der Lungentuberkulose, Lieferung 5 des Handbuches der Therapie in Einzeldarstellungen 1953
- 89 Grundland J., C. r. Acad. Sci. 236, 152 (1953)
- 90 Molho D. - Molho-Lacroix L., Bull. Soc. Chim. Biol. 34, 99 (1952)
- 91 Halvorson H. D. - Spiegelmann S., J. Bact. 64, 207 (1952)
- 92 Bartholomew J. W. - Mittwer T., J. Bact. 63, 779 (1952)
- 93 Mukherji A., Indian J. Med. Res. 40, 167 (1952), Ref. Exp. Med. I, Sct. VI, 5558 (1953)
- 94 Hotchkiss R. D., J. exper. Med. 91, 351 (1950)
- 95 Barban St. - Ajl S., J. Bact. 64, 443 (1952)
- 96 Gros F. - Beljanski M. - Macheboeuf M., C. r. Acad. Sci. 231, 184 (1950)
- 97 Umbreit W. W. - Oginski E. L., J. Mt. Sinai Hosp. 19, 175 (1952)
- 98 Hotchkiss R. D., Bull. NY. Acad. Med. 28, 346 (1952)
- 99 Marmur J. - Saz A. K.- Antibiotics a. Chemotherapy 3, 613 (1953)
- 100 Fitzegerald R. J. - Bernheim F. - Fitzegerald D. B., J. biol. Chem. 175, 19 (1948)
- 101 Wagner W. H., Naturwissenschaften 37, 525 (1950)
- 102a Spiegelmann S., J. cell. comp. physiol. 30, 315 (1947)
- 102b Jackson A. W., Bact. Proc. Soc. Amer. Bact. 52nd General Meeting Boston 160 (1952)
- 103 Reiner J. M., Arch. Biochem. 19, 218 (1948)
- 104 Monod J., Ann. Inst. Pasteur 70, 318 (1944)
- 105 Wainwright S. D. - Pollock M. R., Brit. J. exper. Pathol. 30, 190 (1949)
- 106 Gale G. F., Science 114, 689 (1951)
- 107 Stokes J. L., Antonie van Leeuwenhoek 18, 63 (1952)
- 108 Duzulynska J. - Mikulaszek E., Med. Doswiad. i. Mikrobiol. 2, 108 (1950), Med. Doswiad. i. Mikrobiol. 3, 48 (1951), zit. n. Vonderbank H. Arzneimittelforsch. 2, 43 (1952)
- 109 Gale E. F. - Paine T. F., Biochem. J. 48, 298 (1951), 47, 26 (1950)
- 110 Wight K. - Burk D., Antibiotics a. Chemotherapy 1, 379 (1951)
- 111 Zeller E. A. - Owen C. A. - Power M. H. - Karlson A. G., Proc. Staff Mayo Clinic 24, 490 (1949)
- 112 Owen C. A. - Karlson A. G. - Zeller E. A., J. Bact. 61, 53 (1951)
- 113 Sakakibara E., Acta School Med. Univ. Kioto 28, 144 (1951), zit. n. Vonderbank H. Arzneimittelforsch. 2, 438 (1952)
- 114 ohne Autor, J. Amer. Med. Assoc. 147, 1361 (1951)
- 115 Macht D. I. - Hoffmaster T. E., Arch. Inst. Pharmacodyn. 83, 207 (1951), Ref. Exc. Med. 2, 480 (1951)
- 116 Hahn F. E. - Wisseman C. L., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 76, 533 (1951)
- 117 Koldajew B. M., Gljutation Kiiw 1935
- 118 Linz R. - Lecocq E., C. r. Soc. biol. 144, 305 (1950)

- 119 *Quagliariello E.* - *Fidanza A.*, Boll. soc. ital. sper. 25, 1022 (1949)
- 120 *Mulč F.*, *Experientia* 4, 115 (1948)
- 121 *Drouhet E.* - *Kepes A.*, Ann. Inst. Pasteur 76, 174 (1949)
- 122 *Umbreit W. W.*, Ann. NY. Acad. Sci. 53 6 (1950)
- 123 *Umbreit W. W.* - *Smith P. H.* - *Oginsky E. L.*, J. Bact. 61, 595 (1951)
- 124 *Barkulis I. L.*, J. Bact. 61, 375 (1951)
- 125 *Yudelovich R. Y.* - *Doklady A. K.*, Nauk SSSR 74, 111 (1950), zit. n. Vonderbank H. *Arzneimittelforsch.* 2, 334 (1952)
- 126 *James A. T.*, *Biochem. J.* 50, 109 (1951)
- 127 *Scalfi L.* - *Leonardi G.* - *Brugo B.*, Rev. ist. sieroter. ital. 25, 222 (1950), zit. n. Vonderbank H. *Arzneimittelforsch.* 2, 288 (1952)
- 128 *Vourekka A.*, *Lancet* 260, 28, 38 (1951)
- 129 *Egami F.* - *Ebata M.* - *Sato R.*, *Nature* 167, 118 (1950)
- 130 *Degener W.*, *Arch. f. Tierernährung* 3, 313 (1953)
- 131 *Henry H.* - *Stacey M.*, *Nature* 151, 671 (1943)
- 132 *Rhodes R. E.* - *Vila O. A.* - *Ferlauto R. J.*, *Antibiotics a. Chemotherapy* 3, 509 (1953)
- 133 *Benham R. S.*, *Science* 105, 69 (1947)
- 134 *Pratt R.*, - *Strail L. A.*, J. Bact. 55, 75 (1948)
- 135 *Rinderknecht H.* - *Ward J. L.* - *Beigel F.* - *Morrison A. L.*, *Biochem. J.* 41, 463 (1947)
- 136 *Massart L.* - *Peters G.* - *Vanhouke A.*, *Experientia* 3, 494 (1947)
- 137 *Hauser E. A.* - *Phillips R. G.* - *Phillips J. W.* - *Vavrch J.*, J. physic. Chem. 53, 287 (1949), *Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol.* 141, 406 (1950)
- 138 *Maass E. A.* - *Johnson M. J.*, J. Bact. 57, 415 (1949)
- 139 *Slater E. C.*, *Biochem. J.* 45, 130 (1949)
- 140 *Mitchell P.*, *Nature* 164, 259 (1949)
- 141 *Kramnitz L. O.* - *Werkman C. H.*, *Arch. Biochem.* 12, 57 (1947)
- 142 *Henry R. J.* - *Housewright R. D.* - *Berkman S.*, J. Bact. 57, 447 (1950)
- 143 *Schmitz H.*, *Z. Krebsforsch.* 56, 596 (1950)
- 144 *Umbreit W. W.*, J. Biol. Chem. 177, 703 (1949)
- 145 *Hunter T. H.* - *Baker K. T.*, *Science* 110, 423 (1949)
- 146 *Porter*, *Bacterial Chemistry and Physiology* Wiley-New York 1946
- 147 *Schwartzman*, J. exper. Med. 83, 65 (1946)
- 148 *Geiger W. B.* - *Green S. R.* - *Waksman S. A.*, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 61, 187 (1946)
- 149 *Bondi A.* - *Dietz C. C.* - *Suaufding E. H.*, *Science* 103, 299 (1946)
- 150 *Dolah R. W.* - *van Christensen*, *Arch. Biochem.* 12, 7 (1947)
- 151 *Henry J.* - *Henry R. J.* - *Berkman S.* - *Housewright R. D.*, J. Bact. 53, 567 (1947), J. Pharm. Exper. Ther. 90, 42 (1947)
- 152 *Vogel H.*, *Die Antibiotika* Hans Carl-Nürnberg 1951
- 153 *Karlson P.*, *Dtsch. med. Wschr.* 723 (1954)
- 154 *Anderson G. E.* - *Wiesel L. L.* - *Hillman R. W.* - *Stumpe W. M.*, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 76, 825 (1951)
- 155 *Waisbren B. A.* - *Carr C.* - *Struxness D.*, *Antibiotics a. Chemotherapy* 1, 534 (1951)
- 156 *Cacciavillani B.* - *Grassi C.*, *Settim. med.* 38, 121, 297 (1950), *Ref. Exc. Med.* IV. Sect. V, 2044 (1952)
- 157 *Voneda M.* - *Asano N.*, *Science* 117, 277 (1953)
- 158 *Kessler L.* - *Grün*, *Physikal. Verhandl.* 3 (1952)

- 159 Umbreit W. W., Pharmacol. Rev. 5, 275 (1953)
- 160 Rybak B., Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 32, 703, 894 (1950), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 150, 232, 240 (1952)
- 161 Imbriano A. E., Ann. Soc. Ci. Argent. 149, 205 (1950), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 150, 336 (1952)
- 162 Smith G. N. - Worrel C. S., Arch. Biochem. 28, 232 (1950)
- 163 Binkley F. — Olson C. K., J. biol. Chem. 188, 451 (1951)
- 164 Wooley D. W., J. biol. Chem. 185, 293 (1950)
- 165 Zeller E. A. - Owen A. - Karlson A. G., J. biol. Chem. 188, 623 (1951)
- 166 Gale E. F. - Folkes J. P., Biochem. J. 53, 483 (1953), 55, 11 (1953)
- 167 Wachstein M., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 73, 306 (1950)
- 168 Rowley D. - Cooper P. D. - Roberts P. W. - Smith E. L., Biochem. J. 46, 157 (1950), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 147, 194 (1951)
- 169 Jawetz E. - Gunnison J. B., Antibiotics a. Chemotherapy 2, 243 (1952)
- 170 Jawetz E. - Gunnison J. B., J. Bact. 64, 29 (1952)
- 171 Bockemüller, 20. Kolloquium des Paul-Ehrlich-Instituts zu Frankfurt, Ref. Arzneimittelforsch. 2, 252 (1952)
- 172 Brüggemann Joh. - Bronsch K. - Drepper K., Mh. f. Tierheilkd. - Rinder-Tbk. 3 (1954)
- 173 Brüggemann Joh., Dtsch. tierärztl. Wschr. - Fortpflanzung, Zuchthygiene und Haustierbesamung 4, 47 (1954)
- 174 Bruns F. - Rummel W., Biochem. Ztschr. 321, 197, 236 (1950)
- 175 Kurylowicz W. - Mikulaszek E. - Rzucidlo L., Polsk. Tyg. lek. 5, 1084 (1950), Ref. Exc. Med. IV. Sct. 3931 (1951)
- 176 Braunsteiner H. - Mlczoch F. - Zischka W., Schweiz. Z. Tbk. X, 91 (1953)
- 177 Narahara H. T. - Quittner H. - Goldman L. - Antopol W., Trans. NY. Acad. Sci. 12, 160 (1950), Ref. Exc. Med. IV. Sct. 3877 (1951)
- 178 Gros F. - Macheboeuf M. - Lacaille P., Ann. Inst. Pasteur 75, 320 (1948)
- 179 Buu-Hoi Ng. Ph., Tagung d. Dtsch. Ges. f. Physiol. Chem. Homburg-Saar 1953
- 180 Buu-Hoi Ng., Ph. & Xoung Ng. D. - Binon F. - Nam N. H., C. r. Acad. Sci. (Paris) 235, 329 (1952)
- 181 Gros F. - Macheboeuf M., Ann. Inst. Pasteur 77, 127 (1949)
- 182 Bailey C. C., Vitamins and Hormones VII, 370 (1949), Acad. Press INC-Publishers New York 1949
- 183 Charipper H. A. — Gordon A. S., Vitamins and Hormones V, 293 (1947)
- 184 Kylin O. - Lindberg L., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 803 (1953)
- 185 Fust B. - Studer A. - Böhni E., Schweiz. Z. Tbk. IX, 226 (1952)
- 186 Califano L. - Ciaranfi E., Boll. Ist. sieroter. milan. 22, 92 (1943)
- 187 Grunberg E. - Schnitzer R. J., Quart. Bull. Sea View Hosp. 14, 3/11 (1952)
- 188 Sevag M. G. - Swart E. A., Arch. Biochem. 13, 401 (1947), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 135, 139 (1948)
- 189 Clifton C. E., J. Microbiol. a. Serol. 12, 186 (1947), Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. 135, 402 (1948)
- 190 Pratt R. - Dufrenoy J., J. Bact. 53, 637 (1947), 57, 9 (1949)
- 191 Winkler S., Materia Medica Nordmark 82 (1950)
- 192 Godee T. M. - Finland M. - Wilcox C., J. Lab. a. Clin. Med. 38, 719 (1951)
- 193 Alexander H. E. - Leidy G., J. exper. Med. 97, 17 (1953)
- 194 Lotze H., Medizinische Welt 479, 631 (1936)
- 195 Lotze H. - Thaddea S., Klin. Wschr. 15, 1512 (1936)

- 196 Umbreit W. W. - Smith P. H. - Oginsky E. L., J. Bact. 61, 595 (1951)
- 197 Latterade C. - Macheboeuf M., Ann. Inst. Pasteur 81, 631 (1951)
- 198 Weil A. J., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 79, 539 (1952)
- 189 Miura Y. - Nakamura Y. - Matsudaira H. - Komeiji T., Antibiotics a. Chemotherapy 2, 152 (1952)
- 200 Gale E. F., Symposium sur le mode d'action des antibiotiques 2. Congr. Internat. de Biochim. Paris 1952, Paris Soc. d'Edition d'Enseignement Sup. 1952
- 201 Dufrenoy J. - Pratt R., Symposium sur le mode d'action des antibiot. 1952
- 202 Park, Symposium sur le mode d'action des antibiot. 1952
- 203 Hotchkiss R. D., Symposium sur le mode d'action des antibiot. 1952
- 204 Umbreit W. W., Symposium sur le mode d'action des antibiot. 1952
- 205 Gros F. - Macheboeuf M., Symposium sur le mode d'action des antibiot. 1952
- 206 Mauer H., Naturwissenschaften 39, 502 (1952)
- 207 Mauer H. - Finkeldey W., Naturwissenschaften 39, 503 (1952)
- 208 Mauer H. - Finkeldey W., Naturwissenschaften 39 (1952)
- 209 Gale E. F. - van Halteren M. B., Biochem. J. 50, 34 (1951)
- 210 Rippel-Baldes A., Grundriß der Mikrobiologie, 2. Aufl. Springer 1952
- 211 Vonderbank H. - Erdmann W. F., Arzneimittelforsch. 4, 132 (1954)
- 212 Racker E., J. biol. Chem. 190, 685 (1951)
- 213 Bergmann E. D. - Sicher S., Nature 170, 931 (1952)
- 214 Zamenhof S. - Leidy G. - Alexander H. E. - Fitzgerald P. L. - Chargaff E., Arch. Biochem. Biophysics 40, 50 (1952)
- 215 Akiba T. - Ishii K., Jap. J. exper. Med. 22, 229 (1952)
- 216 Vogel H. - Brüggemann Johs. - Schole J., Landwirtsch. Jahrbuch 29, 61, 511 (1952)
- 217 Petersen S. - Domagk G., Naturwissenschaften 41, 10 (1954)
- 218 Mitchell H. H., Vitamins and Hormones 1, 178 (1943), Acad. Press INC-Publishers New York 1943
- 219 Kollath W. - Stadler P., Erg. Physiol. 41, 806 (1939)
- 220 Sevag M. G., Erg. Hyg. 28, 424 (1954)
- 221 Kaunat H., Naturwissenschaften 41, 66 (1954)
- 222 Hornkiewytsh Th., Strahlentherapie 86, 175 (1952)
- 223 Langendorf H., Strahlentherapie 88, 164 (1952)
- 224 Tscheche R., Arzneimittelforsch. 1, 335 (1951)
- 225 Bruns F. - Rummel W., Klin. Wschr. 29, 62 (1951)
- 226 Heilmeyer L., Beitr. z. Klinik d. Tbk. 111, 55 (1954)
- 227 Lang K., Intermediärer Stoffwechsel Springer 1952 - Seite 364
- 234 Bielig H. J. - Querner H., Z. f. Naturforsch. 4 b, 21 (1949)
- 228 Akiba T. - Ishii K., Jap. J. exper. Med. 22, 241, 249 (1952), Ref. Ber. üb. d. ges. wiss. Biol. 84, 233 (1953)
- 229 Gale E. F. - Rodwell A. W., J. gen. Microbiol. 3, 127 (1949)
- 230 Preuner R., Klin. Wschr. 29, 755 (1951), Zbl. Bakt. 157, 244 (1951)
- 231 Osteux R. - Laturaze J., C. r. Acad. Sci. (Paris) 234, 677 (1952)
- 232 Fischer R. - Larose P., J. Bact. 64, 435 (1952)
- 233 Bielig H. J. - Kausche G. A. - Haardick H., Z. f. Naturforsch. 4 b, 80 (1949)
- 234 Bielig H. J. - Querner H., Z. f. Naturforsch. 4 b, 21 (1949)
- 235 Henry H. - Stacey M., Nature 156, 720 (1943), Proc. Roy. Soc. (London) B 133, 391 (1946)
- 236 Henry H. - Stacey M. - Teece E. G., Nature 156, 720 (1943)

- 237 Bartholomew J. W. - Umbreit W. W., J. Bakt. 48, 567 (1944)
- 238 Deussen E., Z. Hyg. 85, 235 (1918), 93, 512 (1923)
Deussen E., Biochem. Ztschr. 103, 123 (1920)
- 239 Vendrely R. - Lehoul V., C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci. 222, 1357 (1946)
- 240 Pratt R. - Dufrenoy J., Bact. Rev. 12, 79 (1948)
- 241 Tulasne R. - Vendrely R., Nature 160, 225 (1947)
- 242 Bailey J. H. - Cavallito C. J., J. Bact. 55, 175 (1948)
- 243 Klieneberger-Nobel E., Schweiz. Ztschr. f. allgem. Path. Bakt. XI, 338 (1948)
- 244 Neumann F., Zbl. Bakt. 103, 385 (1940-41)
- 245 Roulet F. - Zeller E. A., Helv. chim. acta 31, 1915 (1948)
- 246 Mosonyi L. - Oblatt E., Wien. Z. inn. Med. 30, 32 (1949)
- 247 Zeller E. A. - Owen C. A., Schweiz. Z. Tbk. IX, 39 (1951)
- 248 Zeller E. A. - Barsky J. - Fouts J. R. - Kirchheimer W. F. - van Orden L. S.,
Experientia 349 (1952), J. biol. Chem. 188, 623 (1951), J. Bact. 62, 53 (1951),
Fed. Proc. 10, 273 (1951), 11, 316 (1952)
- 249 Nordmann J. - Nordmann R. - Gauchery O., Experientia 22 (1952)
- 250 Siegert R., Angew. Chemie 61, 258 (1949), Tagung der Dtsch. Ges. f. Physiol.
Chemie in Frankfurt 1948
- 251 Woodward R. S., J. Amer. Chem. Soc. 74, 4976 (1952)
- 252 Grumbach A., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. XI, 494 (1948)
- 253 Fildes P., Brit. J. exper. Path. 21, 67 (1940)
- 254 Fox Ch. L. - Germann B. - Janeway Ch. A., J. exper. Biol. Med. 40, 184
(1939)
- 255 Dubos R. J., J. exper. Med. 49, 575 (1929)
- 256 Warren J. - Street J. A. - Stockinger H., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 40,
208 (1939)
- 257 Pratt R. - Dufrenoy J., Texas Report Biol. Med. 7, 180 (1949)
- 258 Grumbach A., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. XIII, 586 (1950)
- 259 Grumbach A., Vierteljahresschrift d. Naturforschenden Gesellschaft in Zürich
XCVI, 153 (1951)
- 260 Hompesch H., Zbl. Bakt. 157, 130 (1951), Der Ultraschall in der Medizin -
Erlanger Ultraschall-Tagung 1949-218, Il Nuovo Cimento Suppl. al Vol.
VII - Nr. 2 (1950), Intern. Ultraschall-Kongreß Rom 1950
- 261 Preuner R. - v. Prittwitz-Gaffron J., Naturwissenschaften 39, 128 (1952)
- 262 Wundt W., Dtsch. med. Wschr. 147 (1950)
- 263 Preuner R. - v. Prittwitz-Gaffron J., Zbl. Bakt. 157, 244 (1951)
- 264 Piekarski M., Zbl. Bakt. 142, 69 (1938)
- 265 Piekarski M., 2. Coll. Dtsch. Ges. f. physiol. Chemie in Mosbach 1951-83
- 266 v. Hayek H., Naturwissenschaften 37, 262 (1950)
- 267 Gale E. F. - Folkes J. P., Nature 173, 1223 (1954)
- 268 Stolp H., Arch. Mikrobiol. 17, 209 (1952)
- 269 Becker H. - Quadbeck G., Naturwissenschaften 37, 565 (1950)
- 270 Doerr W., Virch. Arch. 321, 537 (1952)
- 271 Siegert R. - Brückel K. W. - Ried W., Ztschr. f. d. ges. exper. Med. 117,
626 (1951)
- 272 Wallhäuser K. H., Arzneimittelforschung 4, 118 (1954)
- 273 Wallhäuser K. H., Arch. Mikrobiol. 16, 201 (1951)
- 274 Wallhäuser K. H., Naturwissenschaften 38, 190 (1951)
- 275 Wallhäuser K. H., Zbl. Bakt. 158, 357 (1952)
- 276 Wallhäuser K. H., Vortrag a. d. Tagung Dtsch. Naturforsch. u. Ärzte 1952

- 277 Boivin A. - Tulasne R. - Vendrely R. - Minck R., Arch. Sci. physiol. 1, 307 (1947)
- 278 Preuner R., Arch. Hyg. 134, 281 (1951)
- 279 Wallhäuser K. H. - Rippel-Baldes A., Naturwissenschaften 37, 450 (1950)
- 280 Joklik W. K., Austral. J. exper. Biol. Med. Sci. 28, 321 (1950)
- 281 Dubnoff J. W., Arch. Biochem. 27, 466 (1950)
- 282 Greuer W. - Hess E., Arzneimittelforschung 4, 432 (1954)
- 283 v. Euler H., Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 295, 411 (1953)
- 284 Cohen S. S., J. biol. Chem. 166, 393 (1946), 168, 511 (1947)
- 285 Herz A., Biochem. Ztschr. 325, 83 (1954)
- 286 Krüger-Thiemer E. - Lembke A., Naturwissenschaften 39, 307 (1952)
- 287 Lembke A. - Kuhn R. B. - Krüger-Thiemer E., Klin. Wschr. 30, 717 (1952)
- 288 Hanson H. - Mantel E., Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 295, 141 (1953)
- 289 Chargaff E., Symposium sur le metabolisme microbien, 2. Congr. Intern. de Biochim. Paris 1952, Paris Soc. d'Edition d'Enseignement Sup. 1952
- 290 Woods D. D., Symposium sur le metabolisme microbien Paris 1952
- 291 Gauze G. F., Uspechi Sov. rem. Biol. 28, 354 (1952), Ref. Ber. üb. d. ges. wiss. Biol. 87, 253 (1954)
- 292 Pittenger R. C. - Wolfe R. N. - Hoehn M. M. — Marks P. N. - Daily W. A. - Mc Guire J., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 1268 (1953)
- 293 Fleming A. - Voureka A. - Kramer I. R. H. - Hughes W. H., J. gen. Microbiol. 4, 257 (1950)
- 294 Hunter M. E. - Mudd S. - Woodburn M. A., J. Bact. 60, 315 (1950)
- 295 Crofts J. E. - Evans D. G., Brit. J. exper. Pathol. 31, 550 (1950)
- 296 Johnstone K. J. - Crofts J. E. - Evans D. G., Brit. J. exper. Pathol. 31, 562 (1950)
- 297 Stresinskij M. O., Z. allgem. Biol. XI, 131 (1950) russisch, Ref. Zbl. Bakt. I-Ref. 149, 545 (1952)
- 298 Schmid D. O., Dtsch. med. Wschr. 1278 (1949)
- 299 Schmid D. O., Z. f. Hyg. 130, 613 (1950)
- 300 Schmid D. O., unveröffentlicht 1950
- 301 Schmid D. O., Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 7, 713 (1952)
- 302 Schmid D. O., Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 7, 719 (1952)
- 303 Schmid D. O., Ärztl. Forschung VII, 1/177 (1953)
- 304 Schmidt-Thomé J., Ztschr. Naturforsch.
- 305 Gardner A. D., Nature 146, 837 (1940)
- 306 Poetschke G. - Hanke O., Klin. Wschr. 30, 402 (1952)
- 307 Hennessen W., Z. f. Hyg. 133, 561 (1952)
- 308 Zeissler J., Ztschr. Immun. Forsch. exper. Ther. 106, 273 (1949)
- 309 Walch E., Klin. Wschr. 28, 776 (1950)
- 310 Walch E., Klin. Wschr. 29, 540 (1951)
- 311 Stearn E. W. - Stearn A. E., J. Bact. 9, 463, 479 (1924)
- 312 Salle A. J., Fundamental Principles of Bacteriology Mc Graw Hill Book Co. INC-New York-London 1943
- 313 Stickel O. - Gärtner K., Z. f. Hyg. 124, 249 (1943)
- 314 Liebermeister K., Klin. Wschr. 26, 332 (1948)
- 315 Schönfeld-Kimmig, Sulfonamide und Penicilline Enke-Stuttgart 1948
- 316 Meara O., Lancet 6482, 747 (1947)
- 317 Neufeld F. - Bär F., Z. f. Hyg. 123, 116 (1940)
- 318 Bode G., Klin. Wschr. 28, 484 (1950)

- 319 Ziegler E., Therapeutische Umschau (Bern) V, 89 (1948)
- 320 Lookwood J. S., J. Immunol. 35, 155 (1938)
- 321 Kohlmüller L. O., Z. f. Hyg. 118, 17 (1936)
- 322 Dienes L., J. Bact. 57, 529 (1949)
- 323 Seelmann M., Biologie der bei Tieren und Menschen vorkommenden Streptokokken, Hans Carl-Nürnberg 1948
- 324 Mossart L. - Pecters G. - de Ley J. - Vercauteren R. - Houke A. van, Experientia 3, 288 (1947)
- 325 Walker-Murray, Brit. Med. Journ. 2, 16 (1904)
- 326 Schuler W., Experientia 3, 110 (1947)
- 327 Henneberg G., Zbl. Bakt. 155, 76 (1950)
- 328 Yegian D. - Kurung J., Amer. Rev. Tbc. 56, 36 (1947)
- 329 Ehrhart H., Tuberkulosearzt 4, 267 (1950)
- 330 Voureka A., Lancet 27 (1951)
- 331 Levaditi C. - Henry-Eveno J., C. r. Soc. biol. CXLIII, 841 (1949)
- 332 Gros F. - Macheboeuf M., Bull. Acad. Nat. Med. Paris 132, 80 (1948)
- 333 Jandasek L. Z., Lékařské Listy 1, 559 (1946)
- 334 Domagk G., Beitr. klin. Tbk. 101, 365 (1948)
- 335 Boivin A. - Tulasne R. - Vendrely R. - Minck R., Bull. Acad. Nat. Med. Paris 132, 37 (1948)
- 336 Labelle O., Acta path. microbiol. scand. 25, 519 (1948)
- 337 Holzer W., Wien. Ztschr. Inn. Med. 28, 8 (1947)
- 338 Seulberger P. - Gärtner K. - Benoit W., Z. f. Hyg. 128 (1948)
- 339 Cattaneo C. - Morellini M., Minerva Medica 1081 (1952)
- 340
- 341 Meyer A. - Galland R., Press. méd. 60, 841 (1952)
- 342 Nègre L., Les Lipoides dans les Bacilles tuberculeux et la Tuberculose, Masson Cie. Paris 1950
- 343 Saxer E., 6. Jahresversammlung d. Schweiz. Mikrobiol. Ges. 1947
- 344 Bringmann G., Z. f. Hyg. 135, 557 (1952)
- 345 Bringmann G., Z. f. Hyg. 135, 505 (1952)
- 346 Demerêc M., J. Bact. 56, 63 (1948)
- 347 Dittrich O., Z. Hautkrht. 11, 91 (1951)
- 348 Goeters W., Z. f. Hyg. 136, 293 (1953)
- 349 Grieder F. - Gros F. - Neipp L. - Meier R., Helv. Physiol. Pharm. Acta 11, 2 (1953) C 4
- 350 Grün L. - Kesseler E., Arzneimittelforschung 371 (1952)
- 351 Grün L. - Schlipköter H. W., Die Medizinische 1428 (1952)
- 352 Kesseler E. - Grün L., 4. Jahrestagung d. Dtsch. Ges. f. Elektronenmikroskopie in Tübingen 1952
- 353 Höhne G. - Thomsen K., Dtsch. med. Wschr. 1771 (1953)
- 354 Krupin U. V., Mikrobiol. (Moskau) 17, 263 (1948)
- 355 Levaditi C. - Henry J., Rev. Immun. 12, 193 (1948)
- 356 Pulvirenti G. B., Riv. Biol. NS. 43, 319 (1951)
- 357 Rolle M. - Mayr F., Arch. Hyg. 135, 23 (1951)
- 358 Santo E., Wien. med. Wschr. 521 (1950)
- 359 Thalhammer O., Helv. paed. acta 6, 523 (1951)
- 360 Tulasne R., C. r. Soc. Biol. 144, 1200 (1950)
- 361 Knöll H. - Zapf K., Zbl. Bakt. 157, 389 (1951)
- 362 Zapf K., Zbl. Bakt. 157, 436 (1951)

- 363 Rist N. - Grumbach F., C. r. Soc. Biol. 146, 564 (1952), Rev. d. l. Tbc. 16, 665 (1952)
- 364 Winkler A., Zbl. Bakt. 154, 189 (1949)
- 365 Zeissler J., Zbl. Bakt. 154, 200 (1949)
- 366 Reimann B., Zbl. Bakt. 159, 88 (1952)
- 367 Sieber E. - Bandmann F., Z. f. d. ges. Inn. Med. 9, 26 (1954)
- 368 Grumbach A., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. XI, 504 (1948)
- 369 Kölbel H., Z. f. Hyg. 133, 45 (1951)
- 370 Wagner W. H. - Saar G., Beitr. z. Klinik d. Tbk. 110, 236 (1953)
- 371 Freerksen E., Beitr. z. Klinik d. Tbk. 110, 97 (1953)
- 372 Ehrlich P., Ber. dtsh. chem. Ges. 42, 17 (1909)
- 373 Voegtlin C. - Dyer H. A. - Leonard C. S., Publ. Health Report Washington 38, 1911 (1923)
- 374 De Robertis E. - Peluffo C. A., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 78, 584 (1951)
- 375 Grumbach A., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. XII, 97 (1949)
- 376 Winkler A. - Knoch M. - König H., Naturwissenschaften 38, 241 (1951)
- 377 Pelcak E. J. - Metzger W. J. - Dornbush A. C., The Harlem Hosp. Bull. 11, 47 (1949)
- 378 Waksman S. A. - Schatz A., J. Amer. Pharm. Assoc. 34, 273 (1945)
- 379 Welch H. - Randall W. A. - Reedy R. J. - Kramer J., Antibiotics a. Chemotherapy 2, 693 (1952)
- 380 Finland M. - Frank P. F. - Wilcox C., Amer. J. clin. Pathol. 20, 325 (1950)
- 381 Frank P. F. - Wilcox C. - Finland M., J. Lab. Clin. Med. 35, 205 (1950)
- 382 Frank P. F. - Wilcox C. - Finland M., J. Lab. Clin. Med. 35, 188 (1950)
- 383 Hein H., Arzneimittelforschung 4, H. 4 (1954)
- 384 Hein H., Arzneimittelforschung 4, 204 (1954)
- 385 Fusillo M. H. - Noyes H. E. - Pulaski F. J. - Tom J. Y., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 581 (1953)
- 386 Bellamy W. D. - Klimek J. W., J. Bakt. 55, 153 (1948)
- 387 Klimek J. W. - Cavallito C. J. - Bailey J. H., J. Bact. 55, 139 (1948)
- 388 Gale E. F. - Rodwell W., J. Bact. 55, 161 (1948)
- 389 Tulasne R. - Vendrely R. - Minck R., C. r. Soc. Biol. 142, 1012 (1948)
- 390 Bringmann G., Zbl. Bakt. 157, H. 8 (1952)
- 391 Ehrhart H. - Steigler A., Z. f. Hyg. 138, 561 (1954)
- 392 Thomas A. R. - Levine M., J. Bact. 49, 623 (1945)
- 393 Altire-Werber A. - Lipschitz R. - Kashdon E. - Rosenblatt R., J. Bact. 50, 291 (1945)
- 394 Levaditi C. - Henry J., Rev. Immunol. 11, 22, 32 (1947)
- 395 Boivin A., C. r. Soc. Biol. 142, 1258 (1948)
- 396 Fleming A. - Voureka A. - Kramer J. - Hughes W., J. gen. Microbiol. 3, 257 (1949)
- 397 Astbury W. T. - Weibull C., Nature 163, 280 (1949)
- 398 Shanahan A. J. - Tronner F. W., J. Bact. 55, 537 (1948)
- 399 Minck R. - Minck A., C. r. Acad. Sci. 228, 279 (1949)
- 400 Price C. W. - Randall W. A. - Chandler V. L. - Reidy P. J., J. Bact. 53, 481 (1947)
- 401 Strauss, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 64, 97 (1947)
- 402 Stubblefield E., J. Bact. 54, 569 (1947)
- 403 Levaditi C., C. r. Soc. Biol. 143, 31 (1949)
- 404 Levaditi C. Vaisman A. - Henry-Eveno J., Presse Méd. 38, 665 (1950)

- 405 Dienes L. - Weinberger H. - Madoff S., J. Bact. 59, 755 (1950)
- 406 Aitoff M., Ann. Inst. Pasteur 79, 222 (1950) Bact. Rev. 15, 245 (1951)
- 407 Parvis D., Boll. Ist. sieroterap. milan. 32, 282 (1953)
- 408 Parvis D. - Sirtori C., Boll. Ist. sieroterap. milan. 32, 368 (1953)
- 409 Grün L. - Hennessen W., Neue med. Welt Nr. 25 (1950)
- 410 Grumbach A., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. XIV, 334 (1951)
- 411 Poetschke G. - Bommer W., Zbl. Bakt. 155, 140 (1950)
- 412 Mc Veigh J. - Hobdy C. J., Am. J. Botan. 39, 352 (1952)
- 413 Hellerman L. - Chinard F. P. - Deitz V. R., J. biol. Chem. 147, 443 (1943)
- 414 Patt H. M. - Smith D. E. - Tyrec E. B. - Straube R. L., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 75, 18 (1950)
- 415 Lorenz W., Strahlentherapie 90, 421 (1953)
- 416 Smolens J. - Vogt A. B., J. Bact. 66, 410 (1953)
- 417 Wacker A., Ztschr. Naturforschung 6 b, 173 (1951)
- 418 Di Raimondo F., Z. f. Vitaminforschung 23, 1 (1951)
- 419 Seelemann M. - Carstens O., Z. f. Hyg. 131, 56 (1950)
- 420 Kellenberger E., Symposium Citologia Batterica Rom 1953
- 421 Barron E. S. G. - Singer T. P., J. biol. Chem. 157, 221 (1945)
- 422 Telling-Oliver, Lancet 1391 (1938)
- 423 Stacey M. - Schlüchterer, Nature 143, 724 (1939)
- 424 Gay, Clark, Street und Miles, J. exper. Med. 69, 607 (1939)
- 425 Blaich, Arch. Dermatol. 180, 105 (1940)
- 426 Domagk G., Chemotherapie bakterieller Infektionen 3. Aufl. Hirzel-Leipzig 1944
- 427 v. Szilvinyi A. - Leithenmayr H., Mitt. d. Versuchsstation f. d. Gärungsgewerbe Wien Nr. 3/4 (1954)
- 428 Jukes T. H., Antibiotika-Symposium München September 1954
- 429 Chain E. B., Vortrag, gehalten auf der Ehrlich/Behring-Gedenkfeier in Frankfurt am 14. 3. 1954
- 430 Umbreit W. W., J. Bact. 66, 74 (1953)
- 431 Cremonesi A. - Barali F., Boll. Soc. ital. Biol. sper. 29, 299 (1953)
- 432 Oesterle P. - Stahl A., Zbl. Bakt. 79, 1—25 (1929)
- 433 Mosonyi L. - Szöke A. - Vaida J., Intern. Ztschr. f. Vitaminforschung XXIV, 255 (1952)
- 434 Knöll H. - Zapf K., Zbl. Bakt. 161, 241 (1954)
- 435 Kulpe W., Ärztl. Wschr. 106 (1953)
- 436 Walter A. M., Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 58, 104 (1952)
- 437 Höhne G. - Josler R. - Künkel H. A., Klin. Wschr. 31, 910 (1953)
- 438 Franz F. - v. Werden J. - Meyer-Arendt J., Naturwissenschaft. 41, 165 (1954)
- 439 Nakotouka M. - Arantani H., J. Antibiot. (jap.) 4, 141 (1951)
- 440 Gocke T. M. - Jackson G. G. - Wilcox C. - Finland M., Ann. NY. Acad. Sci. 53, 297 (1950)
- 441 Umbreit W. W., Ann. NY. Acad. Sci. 53, 6 (1950)
- 442 Heim E., Fortpflanzung, Zucht Hygiene u. Haustierbesamung 4, Nr. 5 (1954)
- 443 Holtermann H., Zbl. Bakt. 161, 457 (1954)
- 444 Schellenberg H., Zbl. Bakt. 161, 433 (1954)
- 445 Schellenberg H., Zbl. Bakt. 161, 425 (1954)
- 446 Umbreit W. W. - Tonbazy N. E., Fed. Proc. 8, Nr. 1 (1949)
- 447 Vishwanathan R., Amer. Rev. Tbc. 70, 328 (1954)
- 448 Moritsch H., Zbl. Bakt. 161, 366 (1954)

- 449 Rosenoff E. J. - Sevag M. G., Antibiotics a. Chemotherapy 3, 495 (1953)
- 450 Lützenkirchen A. - Schoog M., Arzneimittelforschung 4, 485 (1954)
- 451 Tulasne R. - Vendrely C., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. 17, 449 (1954)
- 452 Falcone G., Boll. Ist. sieroterap. milan. 32, 339 (1953)
- 453 Cavallo G. - Falcone G., Atti Acad. Naz. Dei Lincei 15, 234 (1953)
- 454 Ettlinger L., Schweiz. med. Wschr. 85, 271 (1955)
- 455 Barron E. S. G., Adv. Enzymol. 11, 201 (1951)
- 456 Eagle S., J. Bact. 68, 611 (1954)
- 457 Garattini S. - Leonardi A. G., Atti Soc. Lombarda Sci. Med. Biol. 8, 289 (1953)
- 458 Foster J. W. - Pittillo R. F., J. Bact. 66, 478 (1953)
- 459 Hopps H. E., Antibiotics a. Chemotherapy 4, 857 (1954)
- 460 Brody T. M., Antibiotics a. Chemotherapy 4, 864 (1954)
- 461 Gale E. F., Wissenschaftliche Tagung zur 100. Wiederkehr der Geburtstage von Paul Ehrlich und Emil v. Behring, Frankfurt-Hoechst 1954
- 462 Grün L. - Redies H., Klin. Wschr. 894 (1953)
- 463 Pansy F. - Stander H. - Donovick R., Amer. Rev. Tbc. 65, 761 (1952)
- 464 Rondoni P. - Bassi M., Enzymologia 15, 70 (1951)
Ref. Milchw. 9, 115 (1954)
- 465 Lücke H., Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt. 17, 106 (1954)
- 466 Rübsaamen H., Verh. 98. Vers. d. Ges. Dtsch. Naturforscher und Ärzte in Freiburg 1954
- 467 Stienen G., Münchn. med. Wschr. 96, 1191 (1954)
- 468 Fenner O. - Hollmann L. - Heigener H. - Lodenkämper H. - Ludwig L. - Mulli K., Dtsch. med. Wschr. 1861 (1954)
- 469 Davis B. D. - Maas W. K., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 38, 775 (1952)
- 470 Bailey K. - Perry S. V., Biochim. Biophys. Acta 1, 506 (1947)
- 471 White J. G., Austral. J. exper. Biol. 33, 359 (1955)
- 472 Führ H., Vet. med. Diss. München 1951
- 473 Palmhart H., Vet. med. Diss. München 1954
- 474 Clapper W. E., Antibiotics a. Chemotherapy 4, 978 (1954)
- 475 Lang W., Medizinische 1574 (1954)
- 476 Umbreit W. W. - Oginsky E. L., J. Mount Sinai Hosp. XIX, 175 (1952)
- 477 Zipf H. F., Arzneimittelforschung 4, 463 (1954)
- 478 Ilavsky J. - Foley E. J., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 84, 211 (1953)
- 479 Anderson G. E. - Wiesel L. L. - Hillmann R. W. - Stumpe W. M., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 76, 825 (1951)
- 480 Bartholomew J. W. - Mittwer T., Stain technol. 25, 103 (1950)
- 481 Jacobsohn K. P. - Azevedo M. D., Exp. Med. Surg. 11, 149 (1953)
- 482 Mitchell P. - Moyle J., J. gen. Microbiol. 5, 421 (1951)
- 483 Francois A. C. - Michel M., European symposium antibiotics and new growth factors in animal nutrition Rom 10.-12. Mai 1955
- 484 Petuely F. - Eichler F., Z. Naturforsch. 9b, 229 (1954)
- 485 Grün L., Zbl. Bakt. 152, 437 (1948)
- 486 Pennington D., J. Bact. 59, 617 (1950)
- 487 Dietze H. J., Zbl. Bakt. 158, 110 (1952)
- 488 Rolle M., Mikrobiologie und allgem. Seuchenlehre Enke-Stuttgart 1949
- 489 Martens K., Vet. med. Diss. München 1950
- 490 Rother J., Vet. med. Diss. München 1952
- 491 Reichert F., Inaug. Diss. Heidelberg 1913

- 492 *Larose P.* - *Fischer R.*, *Science* 117, 449 (1953)
- 493 *Fischer R.* - *Larose P.*, *Canad. J. Med. Sci.* 30, 86 (1952)
- 494 *Korth W.*, *Arzneimittelforschung* 4, 388 (1954)
- 495 *Bortholomew J. W.* - *Mittwer T.*, *Stain technol.* 25, 103, 181 (1950)
Stain technol. 26, 231 (1950), *J. Bact.* 48, 567 (1944)
- 496 *Piekarski G.*, *Naturwissenschaften* 37, 201 (1950)
- 497 *Piekarski G.*, *Zbl. Bakt.* 155, 74 (1950)
- 498 *Piekarski G.*, *Erg. Hyg.* 26, 333 (1949)
- 499 *Piekarski G.* - *Ruska H.*, *Arch. Mikrobiol.* 10, 302 (1939)
- 500 *Klieneberger - Nobel E.*, *Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt.* 10, 480 (1947)
- 501 *Klieneberger - Nobel E.*, *J. Hyg.* 44, 99 (1945)
- 502 *Stapp C.*, *Zbl. Bakt.* 105, 1 (1942)
- 503 *Jensen J.*, *Zbl. Bakt.* 156, 118 (1950)
- 504 *Krieg A.*, *Naturwissenschaften* 40, 320, 414 (1953)
- 505 *Schuler R.*, *Naturwissenschaften* 39, 90 (1952)
- 506 *Stille B.*, *Arch. Mikrobiol.* 8, 125 (1937)
- 507 *Piekarski G.*, *Arch. Mikrobiol.* 8, 428 (1937)
- 508 *Jacobson W.* - *Webb M.*, *Exp. Cell. Res.* 3, 163 (1952)
- 509 *Hoffmann - Berling H.* - *Weber H. H.*, *Naturwissenschaften* 42, 608 (1955)
Biochim. Biophys. Acta 14, 182 (1954), 15, 332 (1954)
- 510 *Smith A. G.* - *Mudd S.*, *J. Bakt.* 59, 561 (1950)
- 511 *Vendrelly R.* - *Lipardi J.*, *C. r. Acad. Sci.* 223, 342 (1946)
- 512 *Goldberg H. S.* - *Logue J. T.*, *Antibiotics a. Chemotherapy* 6, 19 (1956)
- 513 *Boivin A.* - *Tulasne R.* - *Vendrelly R.* - *Minck R.*, *Presse méd.* 37, 440 (1948)
- 514 *Dawson J. M.* - *Stern H.*, *Biochim. biophysica acta* 13, 31 (1954)
- 515 *Wigand R.* - *Peters D.*, *Z. Naturforsch.* 9 b, 586 (1954)
- 516 *Letterer E.*, 39. Tagung Dtsch. Ges. f. Pathol. Zürich 1955
- 517 *Schönberg F.*, *Lebensmitteltierarzt* 2, 52 (1951)
- 518 *Bassermann F. J.*, *Tuberkulosearzt* 6, 286 (1953)
- 519 *Bringmann C.*, *Z. f. Hyg.* 139, 155 (1954)
- 520 *Mudd S.*, *The mitochondria of bacteria*, *Sympos. Bact. Cytology Rom* 1953,
Suppl. Rend. Ist. Sup. Sanità 61-81 (1953)
- 521 *Mudd S.*, *J. Bact.* 62, 729 (1951)
- 522 *Kellenberger E.*, *Les formes caracteristiques des nucleoides de E. coli et bacteriophages*, *Sympos. Bact. Cytology Rom* 45-66 (1953)
- 523 *Vendrelly R.*, *Histochimie de noyau et du cytoplasme bactérien*, *Sympos. Bact. Cytology Rom* (1953)
- 524 *Bisset K. A.*, *Bacterial cell envelopes*, *Sympos. Bact. Cytology Rom* 9-23 (1953)
- 525 *Knaysi G.*, *J. Bact.* 64, 859 (1952)
- 526 *Bassermann F. J.*, *Zbl. Bakt.* 158, 104 (1952)
- 527 *Bielig H. J.* - *Kausche G. A.* - *Haardick H.*, *Naturwissensch.* 39, 354 (1952)
- 528 *Hahn F. E.*, *Naturwissenschaften* 39, 527 (1952)
- 529 *Krüger-Thiemer E.*, *Untersuchungen an den Granula der Mykobakterien*
Phil. Diss. Kiel 1953
- 530 *Lederberg J.*, *J. Bact.* 68, 258 (1954)
- 531 *Dietrich F. M.*, *Schweiz. Ztschr. allgem. Path. Bakt.* 18, 369 (1955)
- 532 *Weibull C.*, *J. Bact.* 66, 137 (1953)
- 533 *Scheurlen*, *Z. Hyg.* 33, 135 (1900)
- 534 *Klett A.*, *Z. Hyg.* 33, 137 (1900)

- 535 Gosio B., Z. Hyg. 51, 65 (1905)
- 536 Clauberg K. W., Zbl. Bakt. 114, 39 (1929)
- 537 Guthof O., Zbl. Bakt. 158, 87 (1952)
- 538 Gohar M. A., J. Trop. Med. Hyg. 44, 96, 106 (1941)
- 539 Ahrens C. B. F. W., Med. Klinik 46, 723 (1951)
- 540 Ahrens C. B. F. W., Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 8, 418 (1953)
- 541 Jantzen G., Med. Klinik 45, 1380 (1950)
- 542 Wachstein M., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 72, 175 (1949)
- 543 Sorokin H., Am. J. Botan. 25, 28 (1938)
- 544 Sorokin H., Am. J. Botan. 28, 476 (1941)
- 545 Eagle H., J. Pharmacol. exper. Ther. 69, 342 (1940)
- 546 Webster G., Plant Physiol. 28, 724, 728 (1953)
- 547 Nossal P. M., Austral. J. exper. Biol. 31, 583 (1953)
- 548 Michaelis L., Arch. Mikroskop. Anat. 55, 558 (1900)
- 549 Bautz E., Ber. dtsh. botan. Ges. LXVII, 281 (1954)
- 550 Bautz E., Ber. dtsh. botan. Ges. LXVIII, 197 (1955)
- 551 Bautz E., Z. Botan. im Druck
- 552 Sorokin H., Am. J. Botan. 42, 225 (1955)
- 553 Drawert H., Ber. dtsh. botan. Ges. 66, 134 (1953)
- 554 Davis J. - Winterscheid L. C. - Hartmann P. - Mudd S., J. Histo-Cytochem. 1, 123 (1953)
- 555 Bautz E., Naturwissenschaften 42, 49 (1955)
- 556 Ziegler H., Z. Naturforsch. 8 b, 662 (1953)
- 557 Hartmann P. - Liu Ch., J. Bact. 67, 77 (1954)
- 558 Krieg A., Experientia 10, 172 (1954)
- 559 Perner E. S., Ber. dtsh. botan. Ges. 65, 52 (1952)
- 560 Perner E. S., Biol. Zbl. 71, 43 (1952)
- 561 Perner E. S., Protoplasma 42, 457 (1953)
- 562 Hawk P. B. - Oser B. L. - Summerson W. H., Practical physiological chemistry Blakiston-Philadelphia 12 th edition 1947
- 563 Mudd S. - Winterscheid - De Lamater E. D. - Henderson H. J., J. Bact. 62, 459 (1951)
- 564 Shelton E. - Schneider W. C., Anat. Rec. 112, 61 (1952)
- 565 Brodie A. F. - Gots J. S., Science 116, 588 (1952)
- 566 Lazarow A. - Cooperstein S. J., Biol. Bull. 99, 322 (1950)
- 567 Cooperstein S. J. - Lazarow A., Biol. Bull. 99, 321 (1950)
- 568 Lazarow A. - Cooperstein S. J. - Patterson J. W., Anat. Rec. 103, 482 (1949)
- 569 Baker J. R., Quart. J. Micro. Sci. 87, 441 (1946) zit. 571
- 570 Baker J. R., Quart. J. Micro. Sci. 88, 463 (1947) zit. 571
- 571 Winterscheid L. C. - Mudd S., Amer. Rev. Tbc. 67, 59 (1953)
- 572 Mudd S. - Brodie A. F. - Winterscheid L. C. - Hartmann P. E. - Beutner E. H. - Mc Lean R. A., J. Bact. 62, 729 (1951)
- 573 Sorouri P. - Mudd S., Indian J. Med. Res. XLI, 333 (1953)
- 574 Hölscher H. A., Z. Krebsforschung 57, 361 (1951)
- 575 Schmitz H., Naturwissenschaften 38, 405 (1951)
- 576 Krieg A., Naturwissenschaften 41, 19 (1954)
- 577 Hoffman H., J. Bact. 62, 561 (1951)
- 578 Lederberg J., Heridity 2, 145 (1948)
- 579 Knaysi G., J. Bact. 51, 177 (1946)
- 580 Wachstein M. - Pisano M., J. Bact. 59 (1950)

- 581 Bringmann G., *Planta* 40, 398 (1952)
- 582 Bartholomew J. W. - Mittwer T., *J. gen. Microbiol.* 5, 39 (1951)
- 583 Wallhäuser K. H., Vitalfärbung von *Bac. mycoides* mit TTC. Ein Beitrag zur Zellkernfrage. - *Inst. f. Film und Bild in Wissenschaft und Unterricht Göttingen Archivfilm B* 613/1952
- 584 Tronnier, *Naturwissenschaften* 40-511 (1953)
- 585 Kellenberger E. - Huber L., *Experientia* 9, 289 (1953)
- 586 Stille B., *Zbl. Bakt.* 107, 250 (1953)
- 587 Robinow S. F., Addendum zu: *The bacterial cell*, Harvard Univ. Press 1949, zit. n. 391
- 588 Friedheim E. A. H. - Berman R. L., *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 65, 180 (1947)
- 589 Cassel W. A., *J. Bact.* 59, 185 (1950)
- 590 Dempsey E. W. - Singer M. - Wislocki G. B., *Stain technol.* 25, 73 (1950)
- 591 Altmann H. W., *Klin. Wschr.* 33, 306 (1955)
- 592 Piekarski G. - Giesbrecht P., *Naturwissenschaften* 43, 89 (1956)
- 593 Chapman G. B. - Hillier J., *J. Bact.* 66, 362 (1953)
- 594 Bradfield J. R. G., *Nature* 173, 184 (1954)
- 595 Koenig H. - Stabbecker H., *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 79, 159 (1952)
- 596 Erickson R., - Sax K. B. - Ogur M., *Science* 110, 47 (1949)
- 597 Korson R., *Stain technol.* 26, 265 (1951)
- 598 Love R. - Orsi E. V. - Berry E. E., *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 88, 666 (1955)
- 599 Bautz E., *Naturwissenschaften* 42, 619 (1955)
- 600 Caspersson T. - Brandt K., *Protoplasma* 35, 507 (1941)
- 601 Brachet J., *Ann. NY. Acad. Sci.* 50, 861 (1951)
- 602 De Lamater E. D. - Woodburn M., *J. Bact.* 64, 793 (1952)
- 603 Bisset K. A., *J. Bact.* 67, 41 (1954)
- 604 Knaysi G., *J. Bact.* 43, 365 (1942)
- 605 Bisset K. A., *J. gen. Microbiol.* 3, 11 (1949)
- 606 Webb R. B. - Clark J. B., *J. Bact.* 67, 94 (1954)
- 607 Chance H. L., *Stain technol.* 28, 205 (1953)
- 608 Mudd S. - Smith A. G., *J. Bact.* 59, 561 (1950)
- 609 Kantorowicz A., *Münchn. med. Wschr.* 56, 897 (1909)
- 610 Salton M. R. J. - Horne R. W., *Biochim. biophysica acta* 7, 19 (1951)
- 611 Salton M. R. J., *Biochim. biophysica acta* 10, 512 (1953), *J. gen. Microbiol.* 9, 512 (1953)
- 612 Tomcsik J. - Guex-Holzer S., *J. gen. Microbiol.* 10, 317 (1954)
- 613 Tomcsik J. - Guex-Holzer S., *Experientia* 10, 484 (1954)
- 614 Tomcsik J. - Grace J. B., *J. gen. Microbiol.* 13 105 (1955)
- 615 Lancsfield R. C., *J. exper. Med.* 78, 465 (1943)
- 616 Babes V., *Z. f. Hyg.* 20, 412 (1895)
- 617 Migula W., *System der Bakterien* Jena 1897
- 618 Preiß H., *Ztschr. Bakt.* 35, 280 (1904)
- 619 Eisenberg P., *Ztschr. Bakt.* 49, 465 (1909), 53, 481 (1910)
- 620 Knaysi G., *J. Bact.* 19, 113 (1930), 41, 141 (1941), 51, 113 (1946)
- 621 Dyar M. T., *J. Bact.* 53, 498 (1947)
- 622 Hale C. M. F., *Laborat. Pract.* 2, 115 (1953)
- 623 Bisset K. A. - Hale C. M. F., *Exp. Cell. Res.* 5, 449 (1953)
- 624 Robinow C. F. - Murray R. G. E., *Exp. Cell. Res.* 4, 390 (1953)
- 625 Mc Kinney R. E., *J. Bact.* 66, 453 (1953)

- 626 Dunham W. B. - Hamre D. M. - Mc Kee C. M. - Rake G., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 55, 159 (1944)
- 627 Mudd S. - Polevitzky K. - Anderson T. F. - Chambers L. A., J. Bact. 42, 251 (1941)
- 628 Mickle H., J. Roy. Microscop. Soc. 68, 10 (1948)
- 629 Curran H. R. - Evans F. R., J. Bact. 43, 125 (1942)
- 630 King H. K. - Alexander H., J. gen. Microbiol. 2, 315 (1948)
- 631 Hein H., Z. f. Hyg. 132, 519 (1951)
- 632 Salton M. R. J. - Horne R. W., Biochim. biophysica acta 7, 177 (1951)
- 633 Wamoscher L., Z. Hyg. III, 422 (1930)
- 634 Bisset K. A., J. gen. Microbiol. 2, 83 (1948)
- 635 Benians T. H. C., J. Path. Bact. 23, 401 (1920)
- 636 Tison F., Ann. Inst. Pasteur 83, 134 (1952), 82, 760 (1952)
- 637 Mitchell P. - Moyle J., J. gen. Microbiol. 10, 533 (1954)
- 638 Webb M., J. gen. Microbiol. 3, 410 (1949)
- 639 Lamanna C. - Mallette M. F., Basic Bacteriology, Williams-Wilkins Co. Baltimore 1953
- 640 Pennington D., J. Bact. 57, 163 (1949)
- 641 Lanford C. E. - Hoyo H. - Lutteringer J. F., J. Bact. 62, 621 (1951)
- 642 Tomsik J., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 89, 459 (1955)
- 643 Tomsik J., Die Struktur der Bakteriengrenzflächen, Ergebnisse der med. Grundlagenforschung Bd. I Thieme-Stuttgart 1956
- 644 Houwink A. L. - van Itersen W., Biochim. biophysica acta 5, 10 (1950)
- 645 Bisset K. A. - Hale C. M. F., J. gen. Microbiol. 5, 150 (1951)
- 646 Lofgren R., Bact. Proc. 1, 15 (1948)
- 647 van Itersen W., Some remarks on the present state of our knowledge of bacterial flagellation. Symposium Citol. Batt. Roma 1953
- 648 Grace J. B., J. gen. Microbiol. 10, 329 (1954)
- 649 Orskov J., Acta path. microbiol. scand. 24, 181 (1947)
- 650 Weibull C., Biochim. biophysica acta 2, 351 (1948)
- 651 Astbury W. T., Nature 167, 880 (1951)
- 652 Weibull C., J. Bact. 66, 688 (1953)
- 653 Hotchkiss R. D., Arch. Biochem. 16, 131 (1948)
- 654 Mc Manus J. F. A., Nature 158, 202 (1946)
- 655 Friedrich-Freksa H., Naturwissenschaften 28, 376 (1940)
- 656 Graumann W., Ztschr. f. Mikroskopie 61, 225 (1953)
- 657 Glimstedt G. - Lagerstedt S., Die Mitochondrien, Ergebnisse der med. Grundlagenforschung Bd. I Thieme-Stuttgart 1956
- 658 Stacey M., Nature 176, 1145 (1955)
- 659 Gibson F., Nature 176, 164 (1955)
- 660 Hanes C. S. - Hird F. J. R. - Isberwood E. A., Nature 166, 288 (1950)
- 661 Osteux R. - Laturaze J. - Bürck J., Compt. rend. 235, 554 (1952)
- 662 Feulgen R., Abderhaldens Handbuch biol. Arbeitsmethoden V, 2-1055 (1926)
- 663 König H. - Winkler A., Naturwissenschaften 35, 136 (1948)
- 664 Knox R. - King M. B. - Woodruff R. C., Lancet 1, 854 (1952)
- 665 Tager M., Amer. Rev. Tbc. 67, 538 (1953)
- 666 Waksman S. A. - Lechevalier H. A., Amer. Rev. Tbc. 67, 261 (1953)
- 667 Fust B., Therapie der Lungentuberkulose Lieferung 4 des Handbuches der Therapie in Einzeldarstellungen Huber-Bern 1953
- 668 Piekarski G. - Pontieri C. M., Zbl. Bakt. 165, 242 (1956)

- 669 Yuasa A., *Nature* 177, 386 (1956)
- 670 Whitefield J. F. - Murray R. G., *Canad. J. Microbiol.* 1, 216 (1954)
- 671 Nossal P. M. - Morton D. J., *Biochim. biophysica acta* 19, 388 (1956)
- 672 Kaffka A., *Zbl. Bakt.* 165, 264 (1956)
- 673 Föllmer W. - Bockenheimer I., *Arch. Gynäkol.* 181, 232 (1952)
- 674 Isotalo A. — Teir H., *Ann. med. exper. Biol. Fenn.* 31, 300 (1953)
- 675 Bickel G. - Secratan P., *Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss.* 11, 125 (1955)
- 676 Ettlinger L., *Schweiz. med. Wschr.* 85, 271 (1955)
- 677 Chang S. L., *J. clin. Invest.* 25, 752 (1946)
- 678 Metzger J. F. - Fusillo M. H. - Kahns D. M., *Antibiotics a. Chemotherapy* 2, 227 (1952)
- 679 Barr F. S. - Carman P. E. - Harris J. R., *Antibiotics a. Chemotherapy* 4, 818 (1954)
- 680 Bürger M., *Altern und Krankheit*, Thieme-Leipzig 1947
- 681 Jakobi W., *Wilh. Roux Arch. Entwicklungsmechanik* 141, 585 (1941)
- 682 Mundt W., *Tierärztl. Umschau* 8, 15 (1953)
- 683 Reuße U., *Ztschr. Tropenmed. und Parasitol.* 6, 348 (1955)
- 684 Braun H., *Mündln. med. Wschr.* 98, 16 (1956)
- 685 Rausch F., *Arzneimittelforschung* 5, 32 (1955)
- 686 Reed L. J. - De Busk B. G. - Gunsalus J. C. - Hornberger C. S., *Science* 114, 93 (1951)
- 687 Seaman G. R., *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 79, 158 (1952)
- 688 Buchanan I. M. - Wilson D. W., *Fed. Proc.* 12, 646 (1953)
- 689 Greenberg G. R., *Fed. Proc.* 13, 221 (1954), *J. amer. chem. Soc.* 76, 1458 (1954)
- 690 Wacker A. - Grisebach H. - Trebst A. - Weygand F., *Angew. Chemie* 66, 326 (1954)
- 691 Ariens E. J. - Simonis A. M., *Schweiz. Ztschr. allgem. Path. u. Bakt.* 18, 71 (1955)
- 692 Shive W., *Ann. NY. Acad. Sci.* 52, 1212 (1950)
- 693 Woods D. D., 2. Congr. Intern. Biochim. Paris, Sympos. Metabolisme Microbien 1952
- 694 Voureka A., *J. gen. Microbiol.* 6, 352 (1952)
- 695 Pulvertaft R. J. V., *J. Path. Bact.* 64, 75 (1952)
- 696 Bergersen F. J., *J. gen. Microbiol.* 9, 353 (1953)
- 697 Vadász J. - Juhász J., *Nature* 176, 168, 208 (1955)
- 698 Weinberg E. D., *J. Bact.* 62, 785 (1951)
- 699 Taubenack U. - Müller M. R., *Zbl. Bakt.* 163, 309 (1955)
- 700 Böhlke E., *Beitr. Klin. Tbk.* 111, 49 (1954)
- 701 Crofts J. E. - Evans D. G., *Brit. J. exper. Pathol.* 31, 550 (1950)
- 702 Johnstone K. J. — Crofts J. E. - Evans D. G., *Brit. J. exper. Pathol.* 31, 562 (1950)
- 703 Ueckert H., *Zbl. Bakt.* 165, 135 (1956)
- 704 Kellenberger E. - Werner G. H., *Experientia* 4, 440 (1948)
- 705 Marischinig E. - Kuziczka O., *Österr. Z. f. Kinderheilk.* 2, 240 (1949)
- 706 Braun H., *Med. Monatsschrift* 8, 446 (1954)
- 707 Jensen J. - Möller W. - Thofern E., *Naturw.* 41, 382 (1954)
- 708 Daniel P. - Lasfargues E. - Delaunay A., *C. r. Soc. Biol.* 149, 18 (1955)
- 709 Dienes L., *J. Bact.* 44, 37 (1942)
- 710 Dienes L. - Smith W. E., *J. Bact.* 48, 125 (1944)

- 711 Dienes L., J. Bact. 57, 529 (1949)
- 712 Dienes L. - Weinberger H. J. - Madoff S., J. Bact. 59, 755 (1950)
- 713 Freund E. A., Acta path. microbiol. scand. 27, 159 (1950)
- 714 Höpken W. - Bartmann K., Zbl. Bakt. 162, 372 (1955)
- 715 Tulasne R., Nature 164, 876 (1919), Compt. rend. Soc. Biol. 143, 286 (1949)
- 716 Klieneberger - Nobel E., J. gen. Microbiol. 3, 434 (1949)
- 717 Dienes L., J. Bact. 66, 274 (1953)
- 718 Paine T. F. - Finland M., J. Bact. 56, 207 (1948)
- 719 Raettig H. - Buse A., Zbl. Bakt. 164, 458 (1955)
- 720 Hijmans W. - Dienes L., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 90, 672 (1955)
- 721 Pulvertaft R. J. V., J. Path. Bact. 65, 174 (1953)
- 722 Heilmann, F. R., J. inf. Dis. 69, 32, 45 (1941)
- 723 Dienes L. - Weinberger H. J., Bact. Rev. 15, 245 (1951)
- 724 Beljanski M., Ann. Inst. Pasteur 85, 461 (1953)
- 725 Fusillo M. H. - Noyen H. E. - Pulaski E. J. - Tom J. V. S., Antibiotics and Chemotherapy 3, 581 (1953)
- 726 Lederberg J. - Tatum E. L., Nature 164, 150 (1949)
- 727 Demerec M., J. Bact. 56, 63 (1948)
- 728 Newcombe H. B. - Nyholm M. H., Genetics 35, 603 (1950)
- 729 Cavalli L. L., Bull. Org. mond. Santé 6, 185 (1952)
- 730 Liebermeister K. - Kellenberger E., Zeitschr. Naturfr. 11b, 200 (1956)
- 731 Kellenberger E. - Liebermeister K. - Bonifas V., Z. Nat. 11b, 206 (1956)
- 732 Kandler L. - Müller - Zehender C., Arch. Mikrobiol. im Druck
- 733 Germer W. D. - Knapp W., Med. Klinik 1594 (1949)
- 734 Knight V. - Hardy R. C. - Negrin J., J. Amer. Med. Assoc. 149, 1395 (1952)
- 735 Stanley M. M., Amer. J. Med. 2, 253 (1947)
- 736 Tomlin C. E., Arch. int. med. 87, 863 (1951)
- 737 Hayes E. R. - Yow E., Amer. J. med. Sci. 220, 633 (1950)
- 738 Jawetz E., Arch. int. med. 89, 90 (1952)
- 739 Rollinson D. H. L., Vet. J. 1948-108, Ref. Zbl. Bakt. 147, 185 (1950)
- 740 Vuylsteke C. A., Brit. med. Journ. 1, 179 (1947)
- 741 Dearing W. H. - Heilmann F. R. Gastroenterology 16, 12 (1950)
- 742 Ormerod F. C. - Friedmann J., Brit. med. Journ. 4745, 1439 (1951)
- 743 Bertarelli E., Zbl. Bact. 34, 193 (1903)
- 744 Rosahn P. - Hu C., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 30, 1326 (1933)
- 745 Woolstein M. - Meltzer S., Science 38, 452 (1913)
- 746 Woodward H. - Clarke K., Lancet 1, 314 (1913)
- 747 Aitoff M. - Dion M. - Dobkevitch H., Compt. rend. soc. biol. 123, 375 (1936)
- 748 Paine T., J. infect. Dis. 79, 226 (1946)
- 749 Böhle J., Ärztl. Wschr. 11, 19 (1956)
- 750 Ressler J. - Bruynoghe G., Rev. Belg. Pathol. Med. exper. XXII, 215 (1952)
- 751 Aronson J. - Alderman J., J. Bact. 46, 261 (1943)
- 752 Rabinowitz K. - Schifferin R., Acta med. orient. (Tel Aviv) 11, 181 (1952)
- 753 Wheat R. P. - Zuckermann A. - Rantz L. A., Arch. int. Med. 88, 461 (1951)
- 754 Gurevitch J. - Weber D., Amer. J. clin. Path. 20, 48 (1950)
- 755 Fischer H., Chirurgia 1948, 33, Ref. Zbl. Bakt. 147, 313 (1950)
- 756 Fuller A. T. - Horton J. M., J. gen. Microbiol. 4, 417 (1950)
- 757 Seaman A. - Woodbine M. - Kolasiewicz A., Nature 174, 406 (1954)
- 758 Parmala M. E., Amer. Med. exper. biol. Fenniae 31, 267 (1953)

- 759 Matsui S. - Yoda S. - Takayama Y. - Benoki M., Kitasato Arch. exper. Med. XXV, 101 (1952)
- 760 Holmes L. F. - Wilson M. E., J. Bact. 49, 311 (1945)
- 761 Sédallian P. - Carraz M. - Maral R., Ann. Inst. Pasteur 78, 694 (1950)
- 762 Schattenberg - Harris, J. Bact. 44, 509 (1942)
- 763 Drescher R., Ärztl. Wschr. 8, 573 (1953)
- 764 Savio L. - Pastori G., Boll. Soc. ital. Biol. sper. 26, 873, 875 (1950)
17, 1507 (1951)
- 765 Pastori G., Atti VIII Congr. Naz. Microbiol. Milano 1952
- 766 Chodat F. - Wassilieff N., Arch. Sei (Genève) 4, 193 (1951)
Ref. Exc. Med. Microbiol. 5, 4962 (1952)
- 767 Young G., J. Bact. 54, 109 (1954)
- 768 Mefferd R. B. - Loefer J. B., Proc. Texas Branch Soc. Amer. Bact. Austin 1952
Ref. Texas Rep. Biol. Med. 11, 66 (1953)
- 769 Klimek J. W. - Cavallito C. I. - Bailey J. H., J. Bact. 55, 139 (1948)
- 770 Andersen K., J. clin. Path. 7, 148 (1954)
- 771 Ettlinger L. - Zähler H., Schweiz. Ztschr. Path. Bakt. 19, 103 (1956)
- 772 Gale E. F. - Rodwell A. W., J. Bact. 55, 161 (1948)
- 773 Elek S. D. - Levy E., J. Path. Bact. 62, 541 (1950), Brit. J. exper. Path.
31 358 (1950)
- 774 Knatt F. A. - Blaikley J. B., J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 51, 386 (1944)
- 775 Spink W. W. - Ferris V. - Vivino J. J., Proc. Soc. exp. Biol. NY. 55, 210
(1944)
- 776 Bellamy W. D. - Klimek J. W., J. Bact. 55, 139, 153 (1948)
- 777 Mc Veigh J. - Hobdy C. J., Amer. J. Botany 39, 352 (1952)
- 778 Huggins C. B. - Hodges C. V., Cancer Res. 1, 293 (1941)
- 779 Rockstroh H., Z. Urol. 48, 720 (1955)
- 780 Wilmanns H., Medizinische 1954 - 17
- 781 Hasche-Klünder R. - Gaza A., Med. Klinik 50, 2032 (1955)
- 782 Meyer W., Medizinische, 1955 - 1514
- 783 Warnecke C. E., Bruns' Beitr. Klin. Chirurg. 190, 341 (1955)
- 784 Druckrey H., Arzneimittelforschung 2, 503 (1952)
- 785 Druckrey H. - Danneberg P. - Schmähl D., Naturwissenschaften. 39, 381 (1952)
- 786 Schmähl D., Arzneimittelforschung 4, 481 (1954)
- 787 Moellendorff W. v., Klin. Wschr. 1939, 1098
- 788 Lettré H., Hoppe-Seyler's Z. 278, 201 (1943)
- 789 Lehmann E. E., Experientia 3, 223 (1943)
- 790 Friedmann E., Brit. J. Pharmacol. 3, 263 (1948)
- 791 Agrell J., Nature 173, 172 (1954)
- 792 Graeger H. W., Arch. Hyg. 130, 117 (1943)
- 793 Meier K. E. - Ivens K., Naturwissenschaften 41, 284 (1954)
- 794 Meier K. E. - Lenk R., Naturwissenschaften 42, 129 (1955)
- 795 Faulkner, Lancet 245 38 (1943)
- 796 Postes L. - Lanz N. - Krajewitsch A. - Kleinberg M., Compt. rend. soc. biol.
131, 704 (1939), Endokrinologie 24, 131 (1941)
- 797 Bozenhardt K., Vet. med. Inaug., Diss. München 1953
- 798 Tausk M., Münchn. med. Wschr. 1951 - 903
- 799 Begermann H., Dtsch. med. Wschr. 850 (1955)
- 800 Dontenwill W., Klin. Wschr. 33, 725 (1955)
- 801 Ludolph A., Vet. med. Inaug. Diss. Berlin 1938 - Nr. 1945

- 802 *English A. R.* - *McCoy E.*, J. Bact. 62, 19 (1951)
- 803 *Broquist H.*, Vortrag im physikal. chem. Inst. d. Univ. Homburg August 1953
- 804 *Colarusso - Laritza - Donatelli - Calvin*, Symposium über Thicotinsäure 28.-30. 11. 1955 in Neapel veranstaltet vom Instituto Sieroterapico ital. Milano-Napoli
- 805 *Shive W.* - *Ravel I. M.* - *Harding W. M.*, J. biol. chem. 176, 99 (1948)
- 806 *Hoffmann G. E.* - *Stokstad E. L. R.* - *Hutchins B. L.* - *Dornbusch A. C.* - *Jukes T. H.*, J. biol. Chem. 181, 635 (1949)
- 807 *Koditschek L. K.* - *Hendlin D.* - *Woodruff H. B.*, J. biol. Chem. 179, 1093 (1949)
- 808 *Green R. D.* - *Brook A. J.* - *McCormick R. B.*, J. biol. Chem. 178, 999 (1949)
- 809 *Barron E. S. G.* - *Singer T.*, Science 97, 357 (1943)
- 810 *Rapkin L.*, Ann. physiol. physico chem. biol. 7, 382 (1931), zit. n. 672
- 811 *Resemann G.* - *Mutschke E.*, Med. Mitteilungen Schering 17, 13 (1956)
- 812 *Grieder F.* - *Neipp L.* - *Meier R.*, Schweiz. Ztschr. Path. Bakt. 17, 703 (1954)
- 813 *Braun H.* - *Gersbach A.*, Ztschr. Immun. Forschung 33, (1921)
- 814 *Klieneberger E.*, Erg. Hyg. 11, 499 (1930)
- 815 *Stapp C.* - *Zycha H.*, Arch. Mikrobiol. 2, 493 (1951)
- 816 *Petuely F.* - *Eichler F.*, Ztschr. Naturforsch. 9 b, 229 (1954)
- 817 *Wolf R.* - *Brignon J.*, Bull. Soc. Chim. biol. 36, 1125 (1954)
- 818 *Samuels P. J.*, J. gen. Microbiol. 8, 8 (1953)
- 819 *Staub H.*, Schweiz. med. Wschr. 24, 552 (1943)
- 820 *Gaines D. S.* - *Totter J. R.*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 74, 558 (1950)
- 821 *Gaines D. S.* - *Broquist H. P.*, Fed. Proc. 10, 186 (1951)
- 822 *Gaines D. S.* - *Broquist H. P.* - *Williams W. L.*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 247 (1951)
- 823 *Krebs H. A.*, Angew. Chemie 66, 313 (1954)
- 824 *Krebs H. A.* - *Gurin S.* - *Eggleston L. V.*, Biochem. J. 51, 614 (1952)
- 825 *Brüggemann J.*, Antibiotika der Tierernährung, Münchner Symposium 1954
- 826 *Talalay P. S.*, Nature 174, 516 (1954)
- 827 *Woratz H.* - *Thofern E.*, Zbl. Bakt. 163, 538 (1955)
- 828 *Schmid D. O.*, Z. Hyg. 131, 631 (1950)
- 829 *Lettré H.*, Naturwissenschaften 39, 483 (1950)
- 830 *Cavallo G.* - *Falcone G.*, Z. Hyg. 141, 376 (1955)
- 831 *Bokorny Th.*, Zbl. Bakt. 37, 211 (1913)
- 832 *Schade A. L.*, J. Bact. 58, 811 (1949)
- 833 *Schuler W.* - *Meier R.*, Schweiz. Ztschr. Path. Bakt. XIII, 463 (1950)
- 834 *Gameleia N.*, Elemente der allgem. Bakteriologie, Hirschfeld-Berlin 1900
- 835 *Maassen A.*, Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt 21 (1904)
- 836 *Eisler M. v.*, Zbl. Bakt. 546 (1909)
- 837 *Hammerl H.*, Zbl. Bakt. 51 (1906)
- 838 *Sander F.*, Erg. Hyg. 21 (1938)
- 839 *Klieneberger E.*, Erg. Hyg. 11, 499 (1930)
- 840 *Braun H.* - *Berg S.* - *Kessler S.* - *Mavroidi P.*, Med. Monatsschr. 8, 446 (1954)
- 841 *Ercoli N.* - *Gosford B.* - *Carminati G. M.* - *Kley D.* - *Schwartz B. S.*, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 78, 253 (1951)
- 842 *Ehrlich P.*, Ber. dtsh. chem. Ges. 42, 17 (1909)
- 843 *Voegtlin C.* - *Dyer H. A.* - *Leonard C. S.*, J. Pharmacol. 25, 297 (1925)
- 844 *Acklin O.*, Praxis 37, 4 (1948)
- 845 *Hahn W.* - *Schmid D. O.*, Dtsch. med. Wschr. 74, 42 (1949)

- 846 Schmid D. O., Z. Hyg. 130, 613 (1950)
- 847 Schmid D. O., Med. Klinik 27, 759 (1951)
- 848 Acklin O., Zur Biologie d. Na-Salzes des 3-Oxymethylcarbamino-5-carboxypyridins, Exposé vom 6. 10. 1950 der Cilag-AG, Bericht an die Cilag-AG 26. 6. 1950
- 849 Glaninger J. - Neuhold R., Wien. med. Wschr. 103, 746 (1953)
- 850 Kuhn H. - Bielig H. J., Ber. dtsh. chem. Ges. 73, 1080 (1940)
- 851 Strössel H., Praxis 44, 423 (1955)
- 852 Acklin O. - Acklin-Schmid M., Therap. Umschau XI, Heft 1 (1954)
- 853 Külling E. - Pritzker B., Therap. Umschau XI, Heft 1 (1954)
- 854 Braun S., Acta morphol. 4, 61 (1954)
- 855 Druckrey H. - Danneberg P. - Schmähl D., Arzneimittelforsch. 3, 151 (1953)
- 856 Güttes E. - Schmähl D., Arzneimittelforsch. 4, 479 (1954)
- 857 Goldcoer R. J. - Loveless A. - Ross M. C. J., Nature 163, 667 (1949)
- 858 Wagner-Jauregg J., Naturwissenschaften 31, 335 (1943)
- 859 Jakobson E., Dtsch. med. Wschr. 75, 646 (1950)
- 860 Martensen-Larsen O., Therapiewoche 1951, Heft 3, Quart. J. Stud. Alcohol. 14, 406 (1953)
- 861 Bock E. - Gross W., Ärztl. Forsch. 1, 369 (1947), Dtsch. med. Wschr. 74, 953, 995 (1949)
- 862 Straink H., Roux, Arch. 145, 125 (1951)
- 863 Büchner F., Münchn. med. Wschr. 97, 1673 (1955)
- 864 Tomatis G. - Rossi F., Boll. ist. sieroter. milan. XXXIV, 171 (1955)
- 865 Eichler O. - Plewa W., Arzneimittelforsch. 2, 359 (1952)
- 866 Eichler O. - Staib J., Arzneimittelforsch. 3, 355 (1953); 4, 268 (1954)
- 867 Eichler O. - Hertle F., Arzneimittelforsch. 4, 606 (1954)
- 868 Fiedler H. H. - Schmalz D., Medizinische 1954 - 1309, Dtsch. med. Journal 6, 106 (1955)
- 869 Giesen J. - Koelzer P. P. - Köhler F., Ärztl. Forsch. VI, 11-69 (1952)
- 870 Oettel W., Arzneimittelforschung 4, 691 (1954)
- 871 Sterzl J., Nature 163, 28 (1949) BFSKPZBFSKPD
- 872 Meier K. E., Naturwissenschaften 42, 183 (1955)
- 873 Minsavag E. J. - De Lamater E. D., J. Bact. 70, 501 (1955)
- 874 Schär B. - Loustalot P. - Gross F. Klin. Wschr. 32, 49 (1954)
- 875 Bock H. E. - Gross R., Acta haematol. 11, 280 (1954)
- 876 Meier R. - Schär B. - Neipp L., Experientia X, 74 (1954)
- 877 Loustalot P. - Schär B. - Meier R., Experientia XI, 186 (1955)
- 878 Porro A. - Cima L., Arch. ital. sei. farmacol. (Modena) 4, 312 (1954)
- 879 Porro A. - Somein E., Arch. int. Pharmacodyn. Ther. 99, 481 (1954)
- 880 Yall J. - Green M. N., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 79, 306 (1952)
- 881 Paul H. E. - Paul M. F. - Kupka F., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 79, 555 (1952)
- 882 Heiss F., Medizinische 1593 (1955)
- 883 McDermott W. - Tompsett R., Amer. Rev. Tbc. 70, 748 (1954)
- 884 Wanner J. - Kaufmann G., Schweiz. med. Wschr. 85, 339, 370 (1955)
- 885 Wacker A. - Grisebach H. - Trebst A. - Ebert M. - Weygand F., Angew. Chemie 66, 712 (1954)
- 886 Fyg W., Experientia XII, 114 (1956)
- 887 Büchner F., Dtsch. med. Wschr. 81, 1341 (1956)
- 888 Pitzurra M., Boll. Ist. Sieroter. Milan. XXXIV, 546 (1955)

- 889 *De Lamater E. D.*, Ann. Rev. Microbiol. 8, 23 (1954)
- 890 *Chapman G. B.* - *Hilliar J.*, J. Bact. 66, 362 (1953)
- 891 *Birch-Andersen A.* - *Maaloe O.* - *Sjöstrand E. S.*, Biochim. et Biophys. Acta 12, 395 (1953)
- 892 *Kessler S.*, Zbl. Bakt. 165, 469 (1956)
- 893 *Bringmann G.*, Zbl. Bakt. 158, 577 (1952)
- 894 *Pennington D.*, J. Bact. 59, 617 (1950)
- 895 *Brown A. E.* - *Hornstein L. R.* - *Harris M.*, Textile. Res. J. 21, 222 (1951)
- 896 *Fenner O.*, Arzneimittelforschung 4, 368 (1954)
- 897 *Barron* - *Bartlet* - *Miller* - *Seegmiller*, J. exp. Med. 87, 489 (1949)
- 898 *Hartmann F. W.* - *Mangun G. H.* + *Feeley N.* - *Jackson E.*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 70, 248 (1949)
- 899 *Rose H. M.* - *Gellhorn A.*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 65, 83 (1947)
- 900 *Tenbroeck C.* - *Herriot R. M.*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 62, 271 (1946)
- 901 *Fell-Alsopp*, Cancer Res. 9, 238 (1949)
- 902 *Lindemann M.* - *Gummel H.*, Dtsch. Gesundheitswesen 5, 1506 (1950)
- 903 *Schinz H.*, Dtsch. med. Wschr. 1949, 1353, 1394
- 904 *Gilman-Philips*, Science 103, 409 (1949)
- 905 *Haddow-Sexton*, Nature 157, 500 (1946)
- 906 *Leucutia*, Amer. J. Roentgenol. 61, 104 (1949)
- 907 *Legezynski* - *Alexandrowicz* - *Blicharski*, Polski Tyg. Lek. 1949 - 16, Przegl. Lek. (Krakow) 1948 - 645
- 908 *Giesen J.* - *Kölzer P.*, Schweiz. med. Wschr. 1951 - 597
- 909 *Daniel J. W.* - *Johnson M. J.*, J. Bact. 67, 321 (1954)
- 910 *Lettré H.* - *Siebs W.*, Naturwissenschaften 42, 465 (1955)
- 911 *Lettow E.*, Tierärztl. Umschau 1954 - 227
- 912 *Lohding M.*, Ärztl. Wschr. 5, 826 (1950)
- 913 *Schmager A.*, Z. Hyg. 133, 185 (1951)
- 914 *Schmager A.*, Ärztl. Wschr. 6, 644 (1951)
- 915 *Wacker A.* - *Dellweg H.* - *Rowold E.*, Klin. Wschr. 29, 780 (1951)
Z. Naturforschung 4 b, 92 (1949), 5 b, 46 (1950)
- 916 *Voss H. E.*, Arzneimittelforschung 2, 477 (1952)
- 917 *Voss H. E.*, Ärztl. Wschr. 6, 913 (1951)
- 918 *Kolder H.*, Wien. Ztschr. inn. Med. 9, 361 (1954)
- 919 *Lang*, Der intermediäre Stoffwechsel, Springer 1952
- 920 *Benninghoff A.*, Lehrbuch der Anatomie des Menschen 1952
- 921 *v. Holt F.*, Dtsch. med. Wschr. 77 (1952) - 341

Bisher veröffentlichte Arbeiten:

1. Schmid D. O., Technik und Beurteilung der Resistenzprüfung pathogener Mikroorganismen in vitro im Hinblick auf ihre praktische Bedeutung in der Klinik - Dtsch. med. Wschr. 74, 1278 (1949)
2. Schmid D. O., Zur Frage der Bedeutung einer Resistenzprüfung pathogener Mikroorganismen in vitro und deren Beurteilung für die therapeutische Praxis - Z. Hyg. 130, 459 (1950)
3. Schmid D. O., Zur Chemotherapie der Proteus vulgaris-Infektionen - Z. Hyg. 130, 613 (1950)
4. Schmid D. O., Zur mikrobiologischen Diagnostik der obligat und fakultativ pathogenen gramnegativen Keime bei Infektionen des Intestinal- und Urogenitaltraktes - Z. Hyg. 131, 136 (1950)
5. Schmid D. O., Natriumthioglykollat-Bouillon, ein flüssiger Nährboden zur Züchtung obligater und fakultativer Anaerobier - Z. Hyg. 131, 631 (1950)
6. Schmid D. O., Das Hämotokrit und seine diagnostische Bedeutung - Acta haematologica (Basel-New York) 4, 22 (1950)
7. Schmid D. O., Zur Therapie der Enterokokken-Cystitis (Antwort auf die Frage 798) - Med. Klinik 46, 759 (1951)
8. Schmid D. O., Gen und Virus - Parallelen in der Biochemie und der mikrophysikalischen Struktur ihres Feinbaues (Virus- und Genforschung als Beitrag zur Physiologie und Pathologie) - Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 5, 757 (1950)
9. Schmid D. O., Besitzt Diplomycin bakteriostatische oder baktericide Wirksamkeit gegenüber dem Mycobacterium tuberculosis? - Ztsch. f. d. ges. Inn. Med. 7, 380 (1952)
10. Schmid D. O., Zur Nomenklatur und Bedeutung der Blutgerinnungsfaktoren - Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 7, 440 (1952)
11. Schmid D. O., Zur Frage der klinisch-prognostischen Bedeutung einer Resistenzprüfung pathogener Mikroorganismen - Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 7, 713 (1952)
12. Schmid D. O., Kritische Bemerkungen zur Mandelsäure-Therapie bei Coli-Mono- oder Mischinfektionen der Harn- und Gallenwege - Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 7, 719 (1952)
13. Schmid D. O., Antibiotika im Kampf gegen die Tuberkulose - Ärztliche Forschung 7, 1/177 (1953)
14. Schmid D. O., Diagnose der Pneumo- und Bronchopneumomykosen - Ärztl. Praxis 1953 - V/2
15. Schmid D. O., Wege der spinalen Kinderlähmung, Erkenntnisse der mikrobiologischen Forschung im Kampf gegen die Volksseuche - Schwäbische Zeitung 8, Nr. 170 (1952)
16. Schmid D. O., Zur Diagnose der Pneumo- und Bronchopneumo-Mykosen - Ztschr. f. d. ges. Inn. Med. 8, 173 (1953)
17. Schmid D. O. - Wack P., Experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Geflügelkokzidiose mit Diazil-vet.-Cilag - Ztschr. f. Tropenmedizin und Parasitologie 6, 437 (1955)
18. Hahn W. - Schmid D. O., Zur Chemotherapie mischinfizierter Fisteln (Bekämpfung der chronischen Proteus vulgaris-Infektion mit Bilamid) - Dtsch. med. Wschr. 74, 1275 (1949)

